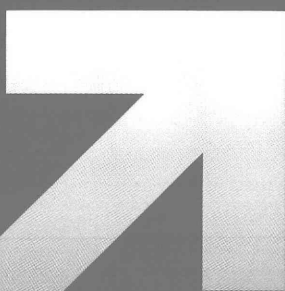


Japanese Journal of Fertility and Sterility

日本不妊学会雑誌



Vol.46 No.3 July 2001
第46卷 第3号 平成13年7月1日

第46回日本不妊学会総会および学術講演会 (第4回予告)

下記により第46回日本不妊学会総会および学術講演会を開催いたしますので多数の方々をご参加下さいますようお願い申し上げます。

- I. 期 日：平成13年11月7日(水) 幹事会, 理事会
8日(木) 学術講演会, 評議員会, 総会, 総懇親会
9日(金) 学術講演会

- II. 会 場：京王プラザホテル
〒160-8330 東京都西新宿2-2-1
TEL: 03-3344-0111

III. 学術講演会予告：

招請講演

- 1) Stimulation protocols for IVF : GnRH agonists vs antagonists
演者：Suheil J. Muasher, M.D.
(Professor, Department of Obstetrics and Gynecology, Eastern Virginia Medical School, Norfolk, U.S.A.)
座長：青野 敏博 (徳島大学医学部産婦人科教授)
- 2) IGF and reproduction
演者：Linda C. Giudice, M.D.
(Professor, Department of Obstetrics and Gynecology, Center for Research on Women's Health and Reproductive Medicine, Stanford University School of Medicine, Stanford, U.S.A.)
座長：岩下 光利 (杏林大学医学部産婦人科教授)
- 3) The current status of ART in Taiwan
演者：黄 國恩 (長庚大学婦産科教授, 高雄, 中華民國(台湾))
座長：玉舎 輝彦 (岐阜大学医学部産婦人科教授)

特別講演

脳死出産におもう

- 演者：竹内 一夫 (杏林大学名誉教授)
座長：飯塚 理八 (慶應義塾大学名誉教授)

教育講演

1) 勃起障害

演者：石井 延久（東邦大学医学部第1泌尿器科教授）

座長：奥山 明彦（大阪大学医学系大学院器官制御外科教授）

2) 卵巣に発現誘導される分化関連物質とその生理的意義

演者：藤原 浩（京都大学大学院医学研究科産婦人科講師）

座長：石川 睦男（旭川医科大学産婦人科教授）

3) 精子の受精能について

演者：平田 修司（山梨医科大学産婦人科講師）

座長：永田 行博（鹿児島大学医学部産婦人科教授）

4) 卵成熟と着床におけるプロラクチンの生理学的意義

演者：神野 正雄（杏林大学医学部産婦人科助教授）

座長：星合 昊（近畿大学医学部産婦人科教授）

シンポジウム

1. 着床現象を司る役者たち

座長：神崎 秀陽（関西医科大学産婦人科教授）

演者：

1) 子宮内膜とシグナル分子

丸山 哲夫（慶應義塾大学医学部産婦人科助手）

2) 着床期子宮内膜における活性酸素とその消去系

杉野 法広（山口大学医学部生殖・発達・感染医科学講師）

3) 着床期に誘導される子宮内膜-胚の相互作用関連物質の分子生物学的解析

巽 啓司（京都大学医学部婦人科産科助手）

4) 血管作動性生理活性物質と着床

久保田俊郎（東京医科歯科大学大学院医歯学総合研究科生殖機能協関学助教授）

5) 着床におけるインテグリンの生理学的意義

塩川 滋達（杏林大学医学部産婦人科講師）

2. 卵巣機能と局所生理活性物質

座長：堤 治（東京大学医学部附属病院分院産婦人科教授）

演者：

1) 黄体機能と局所循環の調節

大須賀 穰（東京大学医学部産婦人科助手）

2) 卵巣機能とパラクリン因子

原田 省（鳥取大学医学部産婦人科講師）

3) 卵巣機能と VEGF

矢本 希夫（和歌山県立医科大学産婦人科助教授）

4) ゴナドトロピンレセプターの発現調節に關与する局所因子

中村 和人 (群馬大学医学部産婦人科助手)

5) IGF-IGFBP と卵胞發育

安藤 索 (杏林大学医学部産婦人科講師)

ワークショップ

1. 不妊カウンセリング —ケアの医療学—

座長：佐藤 孝道 (虎ノ門病院産婦人科部長 (4月より聖路加国際病院産婦人科部長))

演者：

1) 不妊心理とカウンセリング

赤城 恵子 (日本家族計画協会リプロ・ヘルス推進事業本部カウンセラー)

2) カウンセリングと「認知」への働きかけ

大野 裕 (慶應義塾大学医学部精神神経科講師)

3) チーム医療としての不妊治療

福田貴美子 (蔵本ウイメンズクリニック婦長)

4) エンブリオロジストの立場から

荒木 康久 (高度生殖医療技術研究所所長)

2. ICSI と精子形成の分子生物学

座長：伊藤 晴夫 (千葉大学医学部泌尿器科教授)

三浦 一陽 (東邦大学医学部第1泌尿器科教授)

演者：

1) 男性不妊における ICSI の役割

吉田 淳 (東邦大学医学部第1泌尿器科講師)

2) 造精機能にかかわる遺伝子

鈴木 啓悦 (千葉大学医学部泌尿器科助手)

3) 精細胞特異発現遺伝子と ICSI

松宮 清美 (大阪大学大学院医学系研究科臓器制御医学器官制御外科学講師)

4) クラインフェルター症候群に対する TESE・ICSI

山本 泰久 (鳥取大学医学部泌尿器科助手)

5) 先天性両側精管欠損症患者に対する ICSI の問題点

岡田 弘 (神戸大学医学部泌尿器科講師)

3. 家畜繁殖分野での最近の話題

座長：入谷 明 (近畿大学生物理工学部学部長)

演者：

1) 霊長類での顕微受精

細井 美彦 (近畿大学生物理工学部遺伝子工学科助教授)

2) 卵母細胞の体外發育—体外成熟

宮野 隆 (神戸大学農学部応用動物学科助教授)

3) 卵細胞と初期胚の凍結保存

葛西孫三郎 (高知大学農学部生物資源科学科教授)

4) ウシにおける体細胞クローニングのめざすもの

今井 裕 (京都大学大学院農学研究科動物生殖生理学教授)

Ⅳ. 参加申込方法

学会当日会場にて受け付けます。

学会参加費：10,000 円

懇親会費：6,000 円

総懇親会は学術講演会初日の 11 月 8 日 (木) に京王プラザホテルで行います。是非御出席下さい。

Ⅴ. 宿泊案内・宿泊申込書は本号巻末に掲載してあります。

連絡先：〒181-8611 東京都三鷹市新川 6-20-2

杏林大学医学部産婦人科教室内

第 46 回日本不妊学会事務局

TEL: 0422-47-5511 (内線 2608)

FAX: 0422-47-3177 (直通)

平成 13 年 7 月 1 日

第 46 回日本不妊学会
会長 中村 幸雄

会 告

「クローン人間の産生に関する」日本不妊学会の見解

日本不妊学会は、昨年12月に制定された「ヒトに関するクローン技術等の規制に関する法律」の制定過程において、日本不妊学会としての考えを表明してきた。同時にクローン技術が生殖補助医療の今後の発展にどのように貢献するかについて検討し、現在も検討中である。

最近の海外からの報道によると、クローン人間産生が計画され、日本人学者の関与が伝えられている。また、クローン人間を希望する日本人夫婦の存在も報道されている。

このような状況から、日本不妊学会倫理委員会ならびに理事会は「クローン人間産生」に関して検討した結果、次のような結論に達したので、日本不妊学会の見解として発表する。

日本不妊学会は、「ヒトに関するクローン技術等の規制に関する法律」に基づいて、人間の尊厳に関わるクローン人間の産生に関与しないことを宣言する。

〔理由〕

- (1) ヒト生命の誕生は男女両性の有性生殖によるものであり、受精過程を経ることなく既存の個体と同一の遺伝子構成を有する個体を産出することは、自然の摂理に反するといえる。
- (2) 男女両性の有性生殖によらないクローン人間の産生は不妊症の治療法とは認められない。

平成13年3月30日

社団法人日本不妊学会
理事長 伊藤晴夫

倫理委員会報告

倫理委員会では「ヒトに関するクローン技術等の規制に関する法律」が制定される過程で、平成12年6月27日第41回倫理委員会において「クローンに関するワーキンググループ」を設置することを決定して、下記の項目について検討してきた。その経過と結果を報告する。

平成13年6月15日

倫理委員長 永田行博

「クローン技術の生殖補助医療への応用に関する検討」 に関する報告

「ヒトに関するクローン技術等の規制に関する法律」が平成12年11月に成立し、12月に公布された。平成13年6月には正式に発効し、今後その施行細則が制定される予定である。

日本不妊学会倫理委員会は「ヒトに関するクローン技術等の規制に関する法律」の成立過程において管轄官庁である科学技術庁（現文部科学省）と意見の交換を行ってきた。

一方当委員会内に「クローンに関するワーキンググループ」を設置して、クローン技術の生殖補助医療への応用の可能性とその内容を検討してきた。

その結果、次のような事項について、将来的に生殖補助医療に応用できる可能性があるとの大方の意見の集約を見たので報告する。

1. 特定胚のうち、ヒト胚分割胚の作製とその臨床応用の可能性について
(理由) 排卵誘発剤に対する低反応卵巢の治療に応用できる可能性がある。また将来、卵巢刺激法による卵巢過剰刺激症候群などの副作用の予防となりうる。
2. 特定胚のうち、ヒト胚核移植胚の作製とその臨床応用の可能性について
(理由) 高齢婦人の不妊治療ならびにミトコンドリア病の治療に応用できる可能性がある。
3. ヒト胚核移植胚の作製にあたり、未受精卵の提供について
(理由) 卵および胚の質の低下が着床障害の大きな原因となっているので、卵細胞質の老化の改善には除核した卵細胞質の提供が必要である。
4. ヒト胚性幹細胞（ES細胞）樹立のためのヒト体細胞クローン技術の生殖医療への応用について

(理由) 体細胞クローン技術を利用した再生医学や移植医療分野における応用のみならず、分化誘導によるヒト配偶子の形成に利用できる可能性がある。

(注) 特定胚とは、ヒト胚分割胚、ヒト胚核移植胚、人クローン胚、ヒト集合胚、ヒト動物交雑胚、ヒト性融合胚、ヒト性集合胚、動物性融合胚、動物性集合胚をいう。

以上の4項目が将来的に生殖補助医療に応用の可能性があるクローン技術として集約された。最近の報告によると、米国ではすでにミトコンドリア病の治療に第2項および第3項の技術を利用して、卵細胞質の提供による核移植技術が臨床応用されていることが明らかにされた。

本委員会は、上記の技術がわが国で直ちに臨床応用されるものではないとの一致した認識のもとに、「ヒトに関するクローン技術等の規制に関する法律」の発効に伴い、施行細則が制定される過程で、人類の健康と福祉のために、未受精卵および余剰胚を用いたクローン技術の医学研究が続行できるように配慮されることを希望するものである。

会 告

社団法人日本不妊学会では、英文誌の発刊について種々検討を重ねて参りました結果、我が国における生殖学関連の研究は世界的にもトップレベルにあり、これらの Report を世界に向けて発信する必要があるとの結論に達しました。この結論を踏まえて International Journal として『Reproductive Medicine and Biology』を出版社 Blackwell Science Asia の協力のもとに 2002 年 3 月に Vol. 1 No. 1 を発刊することが平成 13 年 3 月 30 日の理事会において決定いたしました。当面は年間 4 号（3, 6, 9, 12 月）の発刊でスタートいたしたいと存じます。発刊されました『RMB』は、Blackwell のネットワークで諸外国の 2,000 の library に配信されますので世界の Reproduction 関係の研究者の目にとまる機会も多くなるものと思います。

『RMB』の投稿規定は、本誌にも掲載致しましたが www.blackwell-science.com/dgdn のホームページにも掲載されておりますのでご利用ください。また、投稿規定が必要な方は、日本不妊学会の事務局へ Email funin-g@vinet.or.jp へ申し込みして送信してもらって下さい。なお、Impact Factor の取得までに 4~5 年が必要となりますので、この間全力投球で望みたいと存じますので、会員各位のご投稿並びにご協力をお願い申し上げます。

なお、他学会との英文誌共有化についても引き続き検討を行っている状況にあります。

平成 13 年 7 月 1 日

社団法人日本不妊学会

理事長 伊 藤 晴 夫

INSTRUCTIONS FOR AUTHORS

AIMS AND SCOPE

Reproductive Medicine and Biology (RMB) is the official English journal of the Japanese Society of Fertility and Sterility, and publishes original research articles that report new findings or concepts in all aspects of reproductive phenomena in all kinds of mammals. Papers in any of the following fields will be considered: andrology, endocrinology, oncology, immunology, genetics, function of gonads and genital tracts, erectile dysfunction, gametogenesis, function of accessory sex organs, fertilization, embryogenesis, embryo manipulation, pregnancy, implantation, ontogenesis, infectious disease, contraception, infertility treatment, surgery, ethics and social issues, at the biological, biochemical, biophysical, molecular biological, analytically morphological and clinical levels. Reports on techniques applicable to the above field are also considered. Original Articles, Research Notes and Clinical Case Reports will be accepted, but not preliminary reports.

Review articles are usually submitted upon invitation by the Editors, but the Editorial Board welcomes voluntary contributions. Reviews should be a focused, brief treatment of a contemporary development in a single area, and should be no longer than 10 printed pages. Authors wishing to contribute Review Articles should contact the Editor-in-Chief or an Editorial Board member before submission.

Acceptance

The acceptance criteria for all papers are the quality, originality and presentation of the research and its significance to our readership. Except where otherwise stated, manuscripts are peer reviewed by three anonymous reviewers and the Editor. Manuscripts are accepted whether or not the author is a member of the Japanese Society of Fertility and Sterility. The Editorial Board reserves the right to refuse any material for publication and advises that authors should retain copies of submitted manuscripts and correspondence as material cannot be returned. Final acceptance or rejection rests with the Editorial Board.

SUBMISSION OF MANUSCRIPTS

All articles submitted to the journal must comply with these instructions. Failure to do so will result in return of the manuscript and possible delay in publication.

Manuscripts should be written so that they are intelligible to the professional reader who is not a specialist in the particular field. Where contributions are judged as acceptable for publication on the basis of scientific content, the Editor or the Publisher reserve the right to modify typescripts to eliminate ambiguity and repetition and improve communication between author and reader. If extensive alterations are required, the manuscript will be returned to the author for revision.

Covering letter

Papers are accepted for publication in the journal on the understanding that the content has not been published or submitted for publication elsewhere. This must be stated in the covering letter.

Authors must also state that the protocol for the research project has been approved by a suitably constituted Ethics Committee of the institution within which the work was undertaken and that it conforms to the provisions of the Declaration of Helsinki in 1995 (as revised in Edinburgh 2000). All investigations on human subjects must include a statement that the subject gave informed consent and patient anonymity should be preserved. Any experiments involving animals must be demonstrated to be ethically acceptable and where relevant conform to national guidelines for animal usage in research.

Authors should declare any financial support or relationships that may pose conflict of interest.

Submission

The original manuscript and three copies should be submitted to:

Editorial Office,
Reproductive Medicine and Biology,
Japanese Society of Fertility and Sterility
c/o MA Conventional Consulting Inc.,

K-wing 3F, 5-2 Koji machi,
Chiyoda-ku, Tokyo 102-0083, Japan.
Tel: 03 3288 7266; fax: 03 5275 1192;
email: funin-g@vinet.or.jp
(As a rule, courier or registered mail should be used.)

Copyright

Papers accepted for publication become copyright of the Japanese Society of Fertility and Sterility and authors will be asked to sign a transfer of copyright form. In signing the transfer of copyright it is assumed that authors have obtained permission to use any copyrighted or previously published material. All authors must read and agree to the conditions outlined in the Copyright Assignment Form, and must sign the Form or agree that the corresponding author can sign on their behalf. Articles cannot be published until a signed Copyright Assignment Form has been received.

PREPARATION OF THE MANUSCRIPT

Submissions should be printed, doubled-spaced, on one side only of A4 paper. The top, bottom and side margins should be 30 mm. Laser or near-letter quality print is essential. All pages should be numbered consecutively in the top right-hand corner, beginning with the title page. Indent new paragraphs. Turn the hyphenation option off, including only those hyphens that are essential to the meaning.

Style

Manuscripts should follow the style of the Vancouver agreement detailed in the 'Uniform Requirements for Manuscripts Submitted to Biomedical Journals', as presented in *JAMA* 1997; 277: 927-34 (<http://www.acponline.org/journals/annals/01jan97/unifreq.r.htm>).

The journal uses US spelling and authors should therefore follow the latest edition of the *Merriam-Webster's Collegiate Dictionary*.

All measurements must be given in SI units as outlined in the latest edition of *Units, Symbols and Abbreviations: A Guide for Medical and Scientific Editors and Authors* (Royal Society of Medicine Press, London).

Abbreviations should be used sparingly and only where they ease the reader's task by reducing repetition of long, technical terms. Initially use the word in full, followed by the abbreviation in parentheses. Thereafter use the abbreviation.

At the first mention of a chemical substance, give the generic name only. Trade names should not be used; drugs, also, should be referred to by their generic names, rather than brand names.

Statistical analysis of the data must be done by appropriate methods. Simultaneous comparisons among multiple estimates should be based on the multiple Student's *t*-test, multiple range test or similar techniques to permit these comparisons. Authors should use an appropriate nonparametric test of significance when the data depart substantially from a normal distribution. For bioassays and competitive protein assays, measures of the precision of the estimates should be given (e.g. standard deviation, standard error of the mean, coefficient of variation, or 95% confidence limits).

Parts of the manuscript

Manuscripts should be presented in the following order: (i) title page, (ii) abstract and keywords, (iii) text, (iv) acknowledgments, (v) references, (vi) figure legends, (vii) tables (each table complete with title and footnotes) and (viii) figures.

Footnotes to the text are not allowed and any such material should be incorporated into the text as parenthetical matter.

Title page

The title page should contain (i) the title of the paper, (ii) the full names of the authors and (iii) the addresses of the institutions at which the work was carried out together with (iv) the full postal and email address, plus facsimile and telephone numbers, of the author to whom correspondence about the manuscript, proofs and requests for offprints should be sent.

In keeping with the latest guidelines of the International Committee of Medical Journal Editors, each author's contribution to the paper is to be quantified.

The title should be short, informative and contain the major key words. A short running title (less than 40 characters, including spaces) should also be provided.

Abstract and key words

Articles must have a brief unstructured abstract that states in 200 words or less the purpose, basic procedures, main findings and principal conclusions of the study. The abstract should not contain abbreviations or references.

Five key words should be supplied below the abstract and, for the purposes of indexing and citation, should be taken from those recommended by the *Index Medicus* Medical Subject Headings (MeSH) browser list (<http://www.nlm.nih.gov/mesh/meshhome.html>).

Text

Authors should use subheadings to divide the sections of their manuscript: Introduction, Materials and methods, Results, Discussion, Acknowledgments, References.

Introduction: This section should include sufficient background information to set the work in context. The aims of the manuscript should be clearly stated. The introduction should not contain either findings or conclusions.

Materials and Methods: This should be concise but provide sufficient detail to allow the work to be repeated by others. The source of material should be given in detail, where possible.

Results: Results should be presented in a logical sequence in relation to the text, tables and figures; repetitive presentation of the same data in different forms should be avoided. The results should not contain material appropriate to the Discussion.

Discussion: This should consider the results in relation to any hypotheses advanced in the Introduction and place the study in the context of other work.

Acknowledgments: The source of financial grants and other funding should be acknowledged, including a frank declaration of the authors' industrial links and affiliations. The contribution of colleagues or institutions should also be acknowledged. Thanks to anonymous reviewers are not allowed. (It is the authors' responsibility to obtain written permission to use directly or in a modified form any material that has appeared in another publication.)

References

The Vancouver system of referencing should be used.

In the text, references should be cited using superscript Arabic numerals in the order in which they appear. If cited only in tables or figure legends, number them according to the first identification of the table or figure in the text.

In the reference list, the references should be numbered and listed in order of appearance in the text. Cite the names of all authors when there are six or less; when seven or more list the first three followed by *et al.* If several papers by the same author(s) and from the same year are cited, a, b, c, should be used after the year of publication to differentiate between articles. Journal titles should be abbreviated according to the Serial Source for the Biosis Data Base, available from <http://www.biosis.org/>

Reference to unpublished data and personal communications should appear in the text only.

References should be listed in the following form.

Journal article

- 1 Bavister B, Yanagimachi R. The effect of sperm extract and energy sources on the motility and acrosome reaction of hamster spermatozoa *in vitro*. *Biol Reprod* 1982; 16: 228-231.

Book <Ed. to supply appropriate reference for book>

- 2 Kaufmann HE, Baron BA, McDonald MB, Waltman SR (eds). *The Cornea*. New York: Churchill Livingstone, 1988;00-00.

Chapter in a Book

- 3 Brinster RL. Mammalian embryo metabolism. In: Blandau RJ (ed.), *The Biology of the Blastocyst*. Chicago: University of Chicago Press, 1971;303-318.

Tables

Tables should be self-contained and complement, but not duplicate, information contained in the text. Tables should be numbered consecutively in Arabic numerals. Each table should be presented on a separate sheet of A4 paper with a comprehensive but concise legend above the table. Tables should be double-spaced and vertical lines should not be used to separate columns. Column headings should be brief, with units of measurement in parentheses; all abbreviations should be

defined in footnotes. Footnote symbols: †, ‡, §, ¶, should be used (in that order) and *, **, *** should be reserved for *P*-values. The table and its legend/footnotes should be understandable without reference to the text.

Figures

All illustrations (line drawings and photographs) are classified as figures. Figures should be cited in consecutive order in the text. Each figure should be labeled on the back in *very soft* marker or chinagraph pencil, indicating name of author(s), figure number and orientation. (*Do not* use an adhesive label.) Figures should be sized to fit within a single column (XX mm) whenever possible. Authors may request that unavoidably large figures be published at double-column width (XX mm), by writing 'double column' on the back of the illustration; however, the Editors reserve the right to make discretionary reductions in size.

Line figures should be supplied as sharp, black and white graphs or diagrams, drawn professionally or with a computer graphics package; lettering should be included.

Photographs should be supplied as sharp, glossy, black and white photographic prints and must be *unmounted*. Individual photographs forming a composite figure should be of equal contrast, to facilitate printing, and should be accurately squared. Photographs need to be cropped sufficiently to prevent the subject being recognized, or an eye bar used; otherwise, written permission to publish must be obtained. Magnifications should be indicated using a scale bar on the illustration.

If supplied electronically, graphics should be supplied as high resolution (at least 300 d.p.i.) files, saved as .eps or .tif format. A high-resolution print-out must also be provided. Digital images supplied only as low-resolution print-outs cannot be used.

Colour figures

Colour photographs should be submitted as good quality, glossy colour prints. The full cost of printing color figures will be charged to the author.

Figure legends

Legends should be self-explanatory and typed on a separate sheet. The legend should incorporate definitions of any symbols used and all abbreviations and units of measurement should be explained so that the figure and its legend is understandable without reference to the text. (Provide a letter stating copyright authorisation if figures have been reproduced from another source.)

MANUSCRIPTS ON DISK

Authors are required to provide their manuscripts on disk; however, disks should *not* be sent until the manuscript has been accepted and all revisions have been made.

Use a new disk rather than a reformatted disk; the disk must contain the relevant file(s) only. Authors should supply their accepted paper as formatted text. It is essential that the hardware and the word processing package are specified on the disk (e.g. IBM, Word 7), as well as the first author's surname, the journal title and the manuscript number.

The entire article (including tables) should be supplied as a *single* file; only electronic figures should be supplied as separate files. The following instructions should be adhered to.

- It is essential that the final, revised version of the accepted manuscript and the file saved on disk are *identical*.
- Do not use the carriage return (enter) at the end of lines within a paragraph.
- Turn the hyphenation option off.
- Specify any special characters used to represent non-keyboard characters.
- Take care not to use l (ell) for 1 (one), O (capital o) for o (zero) or ß (German esszett) for b (Greek beta).
- Use a tab, not spaces, to separate data points in tables.
- If you use a table editor function, ensure that each data point is contained within a unique cell, i.e. do not use carriage returns within cells
- Digital figures *must* be supplied as .tif or .eps files at a resolution of at least 300 d.p.i. (high-resolution print-outs are also required)

On-line guidelines

If possible, authors should visit the Blackwell Science website for authors at www.blackwell-science.com/elecmed/authors/htm which details further

information on the preparation and submission of articles and figures and gives access to the Blackwell *house style* guide.

PROOFS, OFFPRINTS AND PAGE CHARGES

Proofs: Proofs will be sent via e-mail as an Acrobat PDF (Portable Document Format) file and should be returned *within 3 days of receipt*. Alterations to the text and figures (other than the essential correction of errors) are unacceptable at proof stage and authors may be charged for excessive alterations.

Acrobat Reader will be required in order to read the PDF. This software can be downloaded (free of charge) from the following

following	Web	site:
http://www.adobe.com/products/acrobat/readstep2.html		

. This will enable the file to be opened, read on screen, and printed out in order for any corrections to be added. Further instructions will be sent with the proof.

Authors should therefore supply an email address to which proofs can be emailed. Proofs will be faxed if no e-mail address is available. If absent, authors should arrange for a colleague to access their e-mail, retrieve the PDF proof and check and return them to the publisher on their behalf.

Offprints: A minimum of 50 offprints will be provided upon request, at the author's expense. An Offprint Order Form outlining the cost of offprints will be sent to the corresponding author with the page proofs. Offprints will be provided only if a completed Offprint Order Form is returned to the publisher by mail by the specified date.

Page charges: Authors are allowed eight printed pages (Original Articles) and four printed pages (Research Notes and Clinical Case Reports) per article without charge. Excess text and illustrations will be charged to the author on a page basis (¥15 000/US\$150 per page). English language revision and the cost of redrawing figures will also be charged to the authors if the Editorial Board considers this to be necessary.

The full cost of printing color figures will be charged to the author.

ENQUIRIES

The publisher's (Blackwell Science Asia) Tokyo office has Japanese speakers available to answer any queries on tel: 03 5802 6781; fax: 03 5802 6782. (For international calls the country code for Japan is 81.)

日本不妊学会雑誌

第46巻 第3号

平成13年7月1日

—目 次—

原 著

妊娠初期のhCG値と胎児の性(英文)

……………假野隆司・古殿正子・加納万里子・石井みさ子・植木 實………… 1

体外受精-胚移植における品胎予防策として導入した胚盤胞移植の成績

……………半田雅文・原田真木子・島田知代・唐澤康広

浜井晴喜・加藤浩志・小林真一郎・磯島晋三………… 5

子宮筋腫合併不妊症例における子宮筋腫核出術の意義

……………水元久修・斉藤 豪・遠藤俊明

西川 鑑・芦原康氏・田中綾一・工藤隆………… 13

体外受精・胚移植における子宮動脈血流改善を目的とした低用量アスピリン投与の
有用性に関する検討

……………菅谷 進・鈴木美奈・永田裕子

小島由美・藤田和之・倉林 工・田中憲………… 17

症例報告

未成熟卵子体外培養による妊娠成功の1例：胚と子宮内膜の同期化の試み

……………千葉せつよ・京野廣一・拝郷浩佑・佐藤智子・福永憲隆………… 25

ヒト胚盤胞再凍結におけるCryoloopを用いたVitrificationの有効性

……………福永憲隆・拝郷浩佑・千葉せつよ・佐藤智子・京野廣一………… 29

ヒト凍結未受精卵子を用い顕微授精により妊娠・出産に成功した1例

……………京野廣一・福永憲隆・拝郷浩佑・千葉せつよ・佐藤智子………… 33

地方部会講演抄録…………… 40

Japanese Journal of Fertility and Sterility

(Vol. 46, No. 3, 2001)

Japanese Society of Fertility and Sterility

CONTENTS

Originals

- Relation between Human Chorionic Gonadotrophin (hCG) Concentration in
Early Pregnancy and Fetal Sex
.....*T. Kano, M. Furudono, M. Kano, M. Ishii & M. Ueki* 1
- Results of Blastocyst Transfer Introduced for Prevention of Triplet Pregnancy
in *In Vitro* Fertilization and Embryo Transfer
.....*M. Handa, M. Harada, T. Shimada, Y. Karasawa,*
H. Hamai, H. Katoh, S. Kobayashi & S. Isojima 5
- Usefulness of Enucleation of Uterine Myoma for Patients Complicated Sterility
.....*H. Mizumoto, T. Saito, T. Endo, A. Nishikawa,*
K. Ashihara, R. Tanaka & R. Kudo 13
- Clinical Evaluation of Low-Dose Aspirin Treatment in IVF Patients
with Poor Uterine Artery Blood Flow
.....*S. Sugaya, M. Suzuki, Y. Nagata, Y. Kojima,*
K. Fujita, T. Kurabayashi & K. Tanaka 17

Case reports

- Successful *In Vitro* Maturation (IVM) of Immature Oocytes and Pregnancy :
An Attempt of Frozen-Thawed Embryos Transfer in
Hormone Replacement Cycle for Synchronization
.....*S. Chiba, K. Kyono, K. Haigo, T. Sato & N. Fukunaga* 25
- Effect of Vitrification Using Cryoloop in Human Blastocyst by Frozen-Thawed Embryo
.....*N. Fukunaga, K. Haigo, S. Chiba, T. Sato & K. Kyono* 29
- Pregnancy and Delivery of a Healthy Female Infant after Intracytoplasmic
Sperm Injection into Cryopreserved Human Oocytes
.....*K. Kyono, N. Fukunaga, K. Haigo, S. Chiba & T. Sato* 33

Relation between Human Chorionic Gonadotrophin (hCG) Concentration in Early Pregnancy and Fetal Sex

Takashi KANO, Masako FURUDONO, Mariko KANO, Misako ISHII and Minoru UEKI¹⁾

Medical Corporation Kano Clinic, Osaka, Osaka 542-0073, Japan

¹⁾Minoru Ueki Department of Obstetrics and Gynecology, Osaka Medical College,
Takatsuki, Osaka 569-0008, Japan

Abstract : The present study investigated the difference in the concentration of human chorionic gonadotrophin (hCG) between the fetal sexes in early pregnancy by examining 162 women who became pregnant after treatment for sterility and gave birth to live infants (82 girls, 80 boys). Blood hCG- β concentration on the 16th day of the hyperthermic phase of basal body temperature (at 30 days of pregnancy) was compared with the sex of the newborn and found to be significantly higher ($P < 0.01$) with female fetuses than with males. The percentage of female fetuses rose with increasing hCG- β concentration, and the percentage of girls when the concentration was more than 1500 mIU/ml was significantly higher than for concentrations less than 200 mIU/ml ($P < 0.05$). Therefore, the hCG- β concentration in early pregnancy is higher with female fetuses, and the reason for the lower birth rate of girls from mothers with low levels of hCG, which is associated with recurrent abortion, is that more female fetuses are aborted when the hCG concentration is less than 200 mIU/ml.

Key words : hCG, pregnancy, sex difference, abortion.

(Jpn J Fertil Steril 46 : 139-141, 2001)

Introduction

Prenatal sexing requires ultrasonic examination or chromosomal analysis using chorionic or amniotic fluid because endocrinological examination is not possible. Women with hyperemesis gravidarum usually conceive female fetuses, so diagnosis of fetal sex based on the human chorionic gonadotrophin (hCG) concentration may be possible¹⁾. We therefore examined the relation between the sex of the fetus and hCG concentration by measuring the hCG- β concentration in early pregnancy.

Materials and Methods

The subjects were 162 women aged 24 - 44 years who underwent treatment for sterility (excluding patients undergoing in vitro fertilization), became preg-

nant and gave birth to live infants (82 girls, 80 boys). None of them had received immunotherapy for recurrent abortion. The hCG concentration was measured on the 16th day of the hyperthermic phase of basal body temperature (i.e. 30 days of pregnancy) for the purpose of making a prognosis in early pregnancy²⁾. Blood hCG- β was assayed with an IMX analyzer by the hCG- β Dynapack EIA methodTM (Dynabot Ltd) on the day of sampling; if the woman had received hCG preparations for luteal support, the assay was performed 7 or more days after the last intramuscular injection³⁾.

The results are expressed in mean \pm SD. For analysis of significant differences, Mann-Whitney's U-test was used for mean values and the chi-squared test was applied to percentages.

All examinations were performed after informed

consent was obtained from the patients.

Results

In the case of female fetuses, the hCG- β level was a minimum of 176.8 mIU/ml and maximum of 3,262.4 mIU/ml (785.0 ± 590.1 mIU/ml), and for male fetuses, the corresponding values were 81.5 mIU/ml and 1,531.6 mIU/ml (518.5 ± 364.0 mIU/ml). The concentration was significantly higher with female fetuses ($P = 0.0014$) (Fig. 1). The percentage of female fetuses rose with increasing hCG- β concentration, and the percentage for concentrations more than 1,500 mIU/ml (7/9) was significantly higher than that for concentrations less than 200 mIU/ml (7/23) ($P < 0.05$) (Table 1). At concentrations less than 200 mIU/ml, which we have previously reported as the level for poor prognosis²⁾, there were 8.5% (7/82) female babies and 20.0% (16/80) male babies.

Discussion

Askling et al.¹⁾ reported that patients with hyperemesis gravidarum more frequently conceived girls and they hypothesized a relation between emesis and hCG concentration¹⁾, suggesting that a high hCG concentration exists in early pregnancy with a female fetus, based on another report that the hCG concentration at birth of female babies is higher than that of male babies⁵⁾. However, even if the hCG concentration is high at birth, it is not necessarily high in early pregnancy, when emesis develops. On the other hand, Westergaard et al.⁶⁾ did not find a relation between hCG levels measured at 36–60 gestational days and fetal sex.

We reported the possibility of giving a prognosis of pregnancy based on the blood hCG- β concentration on the 16th day of the hyperthermic phase of basal body temperature (i.e. at 30 days of pregnancy)²⁾. In the present study, we used these data to examine the difference in the hCG- β concentration in early pregnancy between the fetal sexes. Consequently, we found that the hCG- β concentration in early pregnancy is higher with female fetuses.

Measurement of hCG for prenatal sexing is not important for fetal survival, but is important for the pre-

Table 1 Percentages of fetal sex at hCG β concentrations

hCG β (mIU/ml)	female	male
<200 (23)	30.4% (7)	69.6% (16)
200~499 (66)	43.9% (29)	56.1% (37)
500~999 (37)	51.4% (19)	48.6% (18)
1,000~1,499 (27)	74.1% (20)	25.9% (7)
$\geq 1,500$ (9)	77.8% (7)	22.2% (2)

Number of patients is shown in parentheses.

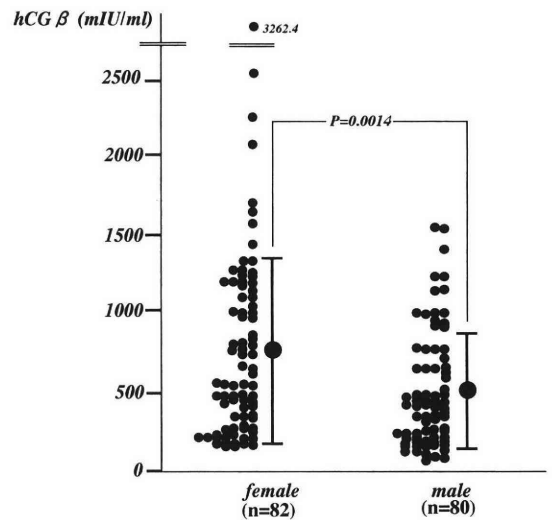


Fig. 1 Sexual difference in hCG- β (concentrations on the 16th day of hyperthermic phase of basal body temperature (at 30 days of pregnancy)).

vention of recurrent abortion. Among the women who had an hCG of 200 mIU/ml or less, there were 2.35 times as many boys (20.0%) delivered as girls and we previously reported that the abortion rate in mothers with an hCG concentration less than 200 mIU/ml was 92.1%²⁾. We also reported that 94.1% of aborted fetuses with normal chromosomal karyotypes involved in autoantibody-negative recurrent abortions⁷⁾, which accounted for 60% or more of recurrent abortions, and in which immunostimulation with paternal lymphocytes⁸⁾ was indicated, were girls. These findings suggest that the reason for the low birth rate of girls from mothers with an hCG concentration less than 200 mIU/ml is that more female fetuses are

aborted by patients with recurrent abortion. Pregnancy with a female fetus is more likely to result in abortion than a male fetus, unless implantation, as demonstrated by the hCG- β concentration, is secure.

References

- 1) Askling J, Erlandsson G, Kaijiser M. et al. (1999) Sickness in pregnancy and sex of child. *Lancet* 354 : 2053
- 2) Kano T, Furudono M, Okuyama K. et al. (1995) Early diagnosis of habitual abortion by serum hCG levels. *Jpn J Fertil Steril* 40 : 244-249
- 3) Kano T, Furudono M, Kano M. et al. (1999) Diagnosis of pregnancy and prognosis by hCG (value before onset of the scheduled menstruation). *Jpn J Fertil Steril* 44 : 133-137
- 4) Kaupplia A, Huhtanemi I, Ylikorkaha O. et al. (1979) Raised serum human chorionic gonadotropin in hy-
- peremesis gravidarum. *BMJ* 1 : 1670-1671
- 5) Danzer H, Braustein GD, Rasor J, et al. (1980) Maternal serum human chorionic gonadotropin concentrations and fetal sex prediction. *Fertil Steril* 34 : 336-340
- 6) Westergaard JG, Teisner B, Grundziskas JG. et al. (1985) Single measurement of chorionic gonadotropin and schwangerschafts protein for assessing gestational age and predicting the day of delivery. *J Reprod Med* 30 : 57-60
- 7) Kano T, Furudono M, Kano M, et al. (2000) Immunostimulation with paternal lymphocytes saves female fetuses from recurrent abortion. *Jpn J Fertil Steril* 45 : 113-118
- 8) Taylor C, Faulk WP (1981) Prevention of recurrent abortion with leukocyte transfusion. *Lancet* 2 : 68-70

(Received : July 15, 2000)

(Accepted : March 29, 2001)

妊娠初期の hCG 値と胎児の性

假野 隆司, 古殿 正子, 加納万里子, 石井みさ子, 植木 實¹⁾

医療法人 假野クリニック

¹⁾大阪医科大学 産婦人科学教室

妊娠初期の hCG 値の性差を検討する目的で、不妊症治療で妊娠が成立、生児を出産した 162 例(男 ; 80 例, 女 ; 82 例)を対象として、基礎体温高温 16 日目(妊娠 4 週 2 日)の血中 hCG β 値と出生児の性別の関係を調べた。この結果、女兒は男児より有意に高く、hCG β レベルが増加するにしたがって女兒が高率になり、1,500mIU/ml 以上では 200mIU/ml 未満より女兒が有意 ($P < 0.05$) に高率であった。以上より我々は妊娠初期の hCG 値は女兒が男児より高濃度であることを明らかにした。hCG が低濃度になるにしたがって女兒率が低下する理由は不育症と関係した女兒の流産が多くなるためかもしれない。

キーワード : hCG, 妊娠, 性差, 流産

(日不妊会誌 46 : 139-141, 2001)

体外受精-胚移植における品胎予防策として導入した 胚盤胞移植の成績

Results of Blastocyst Transfer Introduced for Prevention of Triplet Pregnancy
in *In Vitro* Fertilization and Embryo Transfer

半田 雅文 原 田 真木子 島 田 知 代
Masafumi HANDA Makiko HARADA Tomoyo SHIMADA
唐 澤 康 広 浜 井 晴 喜 加 藤 浩 志
Yasuhiro KARASAWA Haruki HAMAI Hiroshi KATOH
小 林 真 一 郎 磯 島 晋 三
Shin-ichiro KOBAYASHI Shinzo ISOJIMA

生長会府中病院不妊センター

Advanced Fertility Center, Fuchu Hospital, Osaka 594-0076, Japan

生殖補助技術の発達とともに、妊娠率は向上したが、それに伴い多胎妊娠、特に品胎妊娠の増加が大きな問題となってきた。そこで今回我々は高い妊娠率を維持したまま品胎予防を行うことを目的に、1999年5月より、採卵個数が5個以上の場合、5日間の培養を行い胚盤胞が得られた周期に関しては移植胚数を2個に制限する試みを行った（5日間培養群）。採卵個数が5個以上と言う同一条件下で2日または3日間培養し、3個以内胚移植する従来法（2～3日培養群）と5日間培養群とを比較し、品胎予防策としての胚盤胞移植が有効か否かを検討した。結果は従来通りの2～3日培養群でも良好胚を2個以上含む計3個移植可能な周期では41.0%と高い妊娠率を示す反面、3.1%の頻度で品胎が発生した。しかしながら、5日間培養群では胚盤胞を2個移植できた周期の妊娠率は52.1%、着床率は32.4%と非常に良好であり、一卵性双胎を含む二卵性品胎という特殊な1例（1.4%）を除けば品胎発生は認めなかった。以上のことから高い妊娠率を期待しつつ且つ品胎の頻度を極力減らす方法として、胚盤胞移植は非常に有益であると考えられた。

キーワード：体外受精，胚盤胞移植，品胎予防

（日不妊会誌 46：143-149 2001）

緒 言

体外受精（IVF）および顕微授精（ICSI）を含む生殖補助技術の発達とともに、妊娠率は向上したが、それに伴い多胎妊娠、特に品胎妊娠の増加が大きな問題となってきた。そのため、減胎手術の是非が問われるなど社会的な問題も生じている。これは複数の胚を移植する生殖補助技術の宿命とも言える。これらのことを

踏まえ、高い妊娠率を維持しつつ、多胎（特に品胎）を予防することが生殖補助技術に携わるものとしての義務と考えられる。我々は、従来採卵2～3日後に2～8分割胚を3個以内移植してきたが、この際、妊娠例の約3%において品胎が発生していた。品胎の発生を防止する手段は、当然のことながら移植する胚の数を2個以内とすることであるが、2～8分割胚の時点で形態学的な観察のみでviabilityの高い胚を選択するのは

困難である。すなわち採卵 2 日後 (以下 Day2 と略す) あるいは採卵 3 日後 (以下 Day3 と略す) で 2 個移植した場合、妊娠率の低下が予想された。最近になって受精卵を効率よく胚盤胞 (blastocyst) まで発生させ得る培養液が登場してきたので、1999 年より、我々は培養期間を 5 日間とし移植する胚の数を極力 2 個以内として、胎前の発生予防策を実施した。今回我々は Day2、Day3 に 2~8 分割胚を移植した周期と 5 日間培養し胚盤胞または桑実胚を移植した周期とを比較し、胚盤胞移植が妊娠率を低下させることなく多胎予防に有効か否かを検討した。

方 法

対象

Day2 または Day3 に 2~8 分割胚を移植した周期 (2~3 日間培養群) : 1998 年 1 月から 12 月までの 12 カ月間に、府中病院不妊センターにおいて IVF および ICSI を施行した症例のうち、採卵個数が 5 個以上であった 290 症例、358 周期を対象とした。358 周期のうち IVF が 144 周期、ICSI が 214 周期であった。女性患者の平均年齢は 32.8 歳、平均採卵回数は 3.1 回、平均採卵個数は 9.1 個であった (表 1)。

5 日間培養した周期 (5 日間培養群) : 1999 年 5 月以降 2000 年 7 月までの 15 カ月間に、当センターにおいて IVF および ICSI を施行した症例のうち、採卵個数が 5 個以上であった 218 症例、260 周期を対象とした。260 周期のうち IVF が 102 周期、ICSI が 158 周期であった。女性患者の平均年齢は 32.7 歳で、平均採卵回数は 3.1 回、平均採卵個数は 10.3 個であった (表 1)。

2~3 日間培養群、5 日間培養群共に年齢および採卵回数に制限は設けなかった。また、採卵個数が 25 個以上、あるいは hCG 投与日の血中 E₂ 値が 3,000pg/ml 以上の場合、我々は全ての受精卵を凍結保存している¹⁾ので、今回の検討からは除外し、今回の対象は全て新

鮮胚移植周期とした。

IVF, ICSI の方法

既述^{23,4)}のとおり、Gn-RH agonist をロングプロトコールで使用し、月経周期 3 日目から FSH150IU を 3 日間投与し、その後 hMG150IU を連日投与した。直径 17mm 以上の卵胞が 2 個以上認められた時点で hCG 5,000IU を投与し、その 36~37 時間後に経陰超音波ガイド下に採卵を行った。得られた卵は Earl's balanced salt solution (EBSS: GIBCO BRL) で十分に洗浄し、約 2 時間の前培養後、INRA Menezo B₂ Medium (Laboratoire C.C.D.) に交換したのち媒精あるいは ICSI に供した。

培養の方法

2~3 日間培養群 : 媒精あるいは ICSI から 17~19 時間後に、受精の確認を行い、培養液を交換し、INRA Menezo B₂ Medium で培養を続けた。培養は 5%CO₂ in air の状態で行った。

5 日間培養群 : 媒精あるいは ICSI から 17~19 時間後に、受精の確認を行い受精卵を cleavage medium (Sydney IVF Cleavage medium: Cook IVF) に移した。cleavage medium にて 48 時間培養後、Day3 の朝さらに blastocyst medium (Sydney IVF Blastocyst medium: Cook IVF) に交換し 48 時間培養を行った。採卵 5 日後 (以下 Day5 と略す) の朝、胚盤胞あるいは桑実胚に達した胚があるかどうかを観察したのち、胚をもう一度新たな blastocyst medium に移した。この間の培養は 6%CO₂ in air の状態で行った。

移植する胚の選択

2~3 日間培養群 : Day2 または Day3 に Veeck 分類⁵⁾に基づき、形態学的に胚のグレーディングを行い、分割が進んだもので且つ形態学的に良好な胚を選択し、移植する胚は 3 個以内とした。

5 日間培養群 : 胚移植 (ET) は Day5 の午後に固定して行った。胚盤胞が 2 個以上得られれば、移植する

表 1 対象

	2~3 日間培養群	5 日間培養群
期間	1998 年 1 月~12 月	1999 年 5 月~2000 年 7 月
症例数	290 (IVF: 123, ICSI: 167)	218 (IVF: 87, ICSI: 131)
採卵周期数	358 (IVF: 144, ICSI: 214)	260 (IVF: 102, ICSI: 158)
平均年齢	32.8 (20~43)	32.7 (23~43)
平均採卵回数	3.1	3.1
平均採卵個数	9.1	10.3

胚は 2 個に制限し、胚盤胞が 1 個しか得られずにそれ以外は桑実胚あるいはそれ以下の場合も、同じく移植する胚は胚盤胞 1 個を含めた 2 個とした。胚盤胞は 1 個も得られないが、桑実胚が 1 個以上得られた場合は移植する胚は 3 個までとした。Day5 の午後の時点で桑実胚以上の胚が 1 個も得られない場合、胚移植はキャンセルとした。1999 年 10 月以降は胚盤胞を Gardner と Schoolcraft の方法⁶⁾に従い形態学的に分類し、複数の胚盤胞が得られた際は形態学的に良好な胚盤胞を選択し、胚移植した。

妊娠の判定

妊娠の判定は経腔超音波断層法にて子宮内に胎嚢を確認した時点で妊娠と判断した。

統計学的検討

全ての有意差検定は、 χ^2 検定を用いて行った。

結 果

妊娠率

2~3 日間培養群

対象 358 周期のうち、12 周期 (3.4%) で受精が確認されなかったり、明らかに胚の分割が停止していたので胚移植はキャンセルした。Day2 に胚移植を行ったのは 219 周期で、そのうち 70 周期 (32.0%) において妊娠が成立しており、また Day3 に胚移植を行ったのは 127 周期のうち 45 周期 (35.4%) において妊娠が成立した。全体では 115 周期 (33.2%) の妊娠成立を認めた。平均移植胚数は 2.8 個であった。総移植胚数 964 個に対し、総着床胚数は 160 個であり、着床率は 16.6% となった。そして 115 周期のうち 5 周期 (4.3%) で 3 個の着床例を認めた。

346 周期のうち、3 個の胚を移植することが可能であった周期 (3 個移植周期) は 290 周期あり、そのうち 108 周期 (37.2%) で妊娠が成立し、その際の着床率は

17.5% であった。

また、3 個移植可能であった 290 周期のうち、Veeck 分類 2 以上の良好胚を 2 個以上含んでいた周期 (良好胚移植周期) は 239 周期あり、98 周期 (41.4%) で妊娠が成立し、着床率は 19.2% であった (表 2)。

5 日間培養群

対象 260 周期のうち、桑実胚以上の胚が 1 個も得られなかったのは 17 周期 (6.5%) であり、これらに対しては胚移植は行わなかった。残りの 243 周期に対して胚移植を施行した。平均移植胚数は 2.1 個であった。胚盤胞を 2 個移植できた周期は 142 周期 (58.4%) であり、うち 74 周期 (52.1%) において妊娠が成立した。次に、胚盤胞 1 個と桑実胚 1 個を移植した周期および胚盤胞 1 個のみを移植した周期は合計 49 周期 (20.2%) であり、そのうち 11 周期 (22.4%) において妊娠が成立した。すなわち胚盤胞を少なくとも 1 個移植できた周期は合計 191 周期で全体の 78.6% であり、そのうちの 44.5% にあたる 85 周期において妊娠が成立した。また胚盤胞は得られなかったが、少なくとも 1 個以上の桑実胚を含む 3 個以内の胚移植は 52 周期 (21.4%) あり、そのうち 7 周期 (13.5%) で妊娠が成立した。全体では 243 周期の胚移植に対し 92 周期 (37.9%) で妊娠は成立した。

胚移植を施行した 243 周期において総移植胚数は 507 個であり、平均移植胚数は 2.1 個であった。総着床胚数は 113 個で着床率は 22.3% となった。そのうち、胚盤胞を 2 個移植した 142 周期では 74 周期で妊娠が成立し、着床率は 32.4% で、2 個とも着床したのは 18 周期であった。すなわち、胚盤胞を 2 個移植した場合に 2 個とも着床する頻度は 12.7% であった (表 3)。

妊娠経過

2~3 日間培養群

妊娠が成立した 115 周期のうち、単胎妊娠は 74 周期

表 2 2~3 日間培養群の妊娠率と着床率

	全体	(2 日目)	(3 日目)	3 個胚移植群	良好胚移植群
採卵周期数	358				
キャンセル周期(率)	12(3.4%)				
胚移植周期数	346	(219)	(127)	290	239
平均移植胚数	2.8	(2.8)	(2.8)	3.0	3.0
妊娠周期	115	(70)	(45)	108	98
妊娠率(/ 胚移植)	33.2%	(32.0%)	(35.4%)	37.2%	41.0%
着床率	16.6%(160/964)	(15.8%)	(18.1%)	17.5%(152/870)	19.2%(138/717)

表3 5日間培養群の妊娠率と着床率

	全体	胚盤胞2個移植	胚盤胞1個含む	胚盤胞含まない
採卵周期数	260			
キャンセル周期(率)	17(6.5%)			
胚移植周期数	243	142	49	52
平均移植胚数	2.1	2.0	1.9	2.4
妊娠周期	92	74	11	7
妊娠率(/胚移植)	37.9%	52.1%	22.4%	13.5%
着床率	22.3%(113/507)	32.4%(92/284)	14.6%(14/96)	5.5%(7/127)

表4 妊娠経過

	2~3日間培養群		5日間培養群			
	全体	良好胚移植群	全体	胚盤胞2個移植	胚盤胞1個含む	胚盤胞を含まない
妊娠周期数	115	98	92	74	11	7
単胎妊娠	74(64.3%)	62(63.3%)	57(62.0%)	45(60.8%)	7	5
双胎妊娠	26(22.6%)	23(23.5%)	15(16.3%)	12(16.2%)	3	0
品胎妊娠	3(2.6%)	3(3.1%)	1(1.1%)	1	0	0
流産	9(7.8%)	8(8.2%)	16(17.4%)	13(17.6%)	1	2
子宮外妊娠	3(2.6%)	2(2.0%)	3(3.3%)	3(4.1%)	0	0

(64.3%)であり、双胎妊娠は26周期(22.6%)となった。また、3個の胚が着床した周期は5周期あったが、うち2周期は少なくとも1個の胚が流産に終わっていたため、最終的に品胎妊娠は3周期(2.8%)となった。流産は9周期(7.8%)、子宮外妊娠は3周期(2.6%)であった。良好胚移植周期で妊娠が成立した98周期中、双胎妊娠23周期(23.5%)、品胎妊娠3周期(3.1%)であり、多胎率は26.5%であった(表4)。

5日間培養群

今回の対象症例中、妊娠が成立したのは92周期であり、そのうち57周期(62.0%)は単胎妊娠継続中である。双胎妊娠継続中は15周期で16.3%であった。流産は16周期(17.4%)、子宮外妊娠は3周期(3.3%)であった。また1症例は、胚盤胞を2個移植した結果、二卵性品胎となり、その後一卵性双胎の方が重症の双胎間輸血症候群(TTTS)を発症したため、人工妊娠中絶となった。胚盤胞を2個移植し妊娠に至った74周期中、多胎妊娠は13周期で多胎率は17.6%であった(表4)。

考 察

品胎の予防で一番簡単な手法は、移植する胚の数を2個以内にすることである。しかし、day2またはday

3で4分割から8分割の胚を移植した場合、その着床率は多くの報告⁷⁾では10%から20%で、移植胚数を3個から2個に制限すれば理論的に妊娠率の低下することが予想された。近年、胚を5日間培養し、胚盤胞を移植することにより高い着床率と妊娠率が得られることが報告⁸⁻¹⁰⁾されており、我々は胚盤胞移植を導入すれば移植胚数を2個に制限しても妊娠率の低下は防げるのではないかと考え、1999年5月より採卵個数が5個以上の症例に対して、良好胚を2個選択する目的で5日間の培養を行い、胚盤胞移植を開始した。今回の報告は条件を同一にするために、2~3日培養群においても採卵個数が5個以上の症例を対象にした。

2~3日培養群、5日間培養群の間にはIVF、ICSIの患者の割合、患者の平均年齢、平均採卵回数、平均採卵個数に有意差は認めなかった(表1)。

また、5日間培養しても桑実胚1個すら得られず、胚移植をキャンセルしたキャンセル率も6.5%(17/260)であり、2~3日培養群におけるキャンセル率3.4%(12/358)と比べて有意差(p=0.06)は認めなかった(表2,表3)。

2~3日培養群(表2)をみると2日間培養した周期と3日間培養した周期では妊娠率は32.0%、35.4%で

有意差 ($p=0.5090$) は認められなかった。しかし、良好胚を 2 個あるいは 3 個移植できた 239 周期とそれ以外つまり良好胚を 2 個以上移植できなかった 107 周期を比較すると、妊娠率は良好胚移植群で 41.0%、良好胚を移植できなかった群では 15.9% であり、有意差 ($p<0.001$) を認めた。そして、2~3 日培養群の品胎の 3 例は全て良好胚移植群より発生していた (表 4)。つまり、従来通りの 2~3 日培養群でも良好胚を 2 個以上含む計 3 個移植可能な周期では 41% と高い妊娠率を示す反面、3.1% の頻度で品胎が発生する事が明らかになった。

次いで、5 日間培養群を見ると (表 3)、Day5 において胚盤胞が得られずに少なくとも 1 個の桑実胚を含む 3 個以内の移植周期では着床率は 5.5%、妊娠率は 13.5% と低く、培養 5 日目での桑実胚に関してはその胚の viability は低いものと考えられた。またこの群における妊娠予後は単胎 5 例、流産 2 例で多胎は発生しなかった (表 4)。以上の事から 5 日目で桑実胚のみしか得られないようなケースでは移植胚数は 3 個でもよいと考えられる。胚盤胞を 2 個移植できた周期の妊娠率は 52.1%、着床率は 32.4% であったが、胚盤胞 1 個を含む計 2 個移植した周期のそれは各々 22.4%、14.6% にとどまっており、有意に胚盤胞を 2 個移植した周期の方が妊娠率、着床率ともに高かった ($p<0.001$)。これは単に胚盤胞が 1 個あるいは 2 個であるのかという数の問題だけではなく、胚盤胞 1 個を含む計 2 個移植した周期では複数の受精卵の中から 5 日目で胚盤胞にまで発育した胚は 1 個のみであり、胚盤胞に選択の余地がなかった。それに対し、胚盤胞を 2 個移植できた周期のうちには、胚盤胞にまで発育した胚が 2 個以上あり複数の胚盤胞の中から、よりグレードの高い胚盤胞を選択して移植可能であった周期が多数含まれていたためと考えられる。Gardner らの報告¹¹⁾でもグレードの高い胚盤胞を移植する方が着床率、妊娠率共に高くなっており、単に胚盤胞を移植するだけではなく、よりグレードの高い胚盤胞を移植することが重要であると考えられる。

2~3 日培養群と 5 日間培養群を比較すると、平均移植胚数は 2~3 日培養群では 2.8 個であるのに対して 5 日間培養群では 2.1 個とほぼ 2 個に低下している。胚移植あたりの妊娠率は 2~3 日培養群全体では 33.2% (115/346)、5 日間培養群全体では 37.9% (92/243) となり、5 日間培養群の方が高い妊娠率を示しているものの、有意差は認めなかった ($p=0.1463$)。また、2

~3 日培養群のうちの良い胚移植群と 5 日間培養群全体とを比較しても妊娠率は 41.0% (98/239) と 37.9% (92/243) で有意差を認めなかった ($p=0.480$)。つまり我々は高い妊娠率を維持しつつ移植胚数を制限する事に成功したと考えられる。そして、2~3 日培養群のうちの良い胚移植群と、胚盤胞を 1 個ないしは 2 個移植した (5 日間培養群において移植胚数を、少なくとも 1 個の胚盤胞を含む計 2 個にしたケース) 191 周期の妊娠率を比較すると、前者は 41.0% (98/239)、後者は 44.5% (85/191) となり、これも有意差を認めなかったが ($p=4.660$)、前者では品胎妊娠を 3 例 (3.1%) 認め、後者では一卵性双胎を含む二卵性品胎という特殊な 1 例 (1.2%) のみであった。これらの事から、高い妊娠率を期待しつつ且つ品胎の頻度を極力減らす方法として、胚盤胞移植は非常に有益であると考えられる。着床率を比較すると、2~3 日培養群の良好胚移植群 (138/717 = 19.2%) と比べて 5 日間培養群全体 (113/507 = 22.3%) では有意差は認めなかった ($p=0.1943$) が、胚盤胞を 1 個ないしは 2 個移植できた周期 (106/380 = 27.9%)、胚盤胞を 2 個移植できた周期 (92/284 = 32.4%) と比較すると共に $p<0.001$ で有意差を認めた (表 2, 表 3)。この事は day2 あるいは Day3 における形態学的良好胚といえども胚盤胞の有している着床率を上回ることはないということを示しており、5 日間培養群において移植胚数を 2 個に制限したにも関わらず、高い妊娠率が得られたのは胚盤胞の有している viability については着床能に起因するものであると考えられる。

今回、我々は胚盤胞移植を導入することにより、品胎発生を予防することに成功したが、問題点がない訳ではない。一つは、受精卵の発育が停止し、桑実胚も得られずに胚移植がキャンセルになった場合、あるいは複数回の ART の施行にもかかわらずなかなか胚盤胞が得られず妊娠が成立しない、そういった状況の患者の心理的負担は小さいものではない。医師のみならずカウンセラー等の援助も必要となってくるものと予想される。二つめは、インキュベーター内に保管する胚の数が増加することや、培地交換の頻度が増加することによる laboratory work の負担増である。これは単に培養室内での仕事量が増加することだけにとどまらず、培養室の面積やインキュベーターの台数増加が要求されることにもなりかねないし、さらには胚の保管に関わる培養環境のさらなる厳密さも要求されてくる。三つめは、今回我々も経験したことではあるが、胚盤胞移植による一卵性双胎の発生の問題である。

Peramo ら¹²⁾あるいは Langendonck ら¹³⁾も報告している様に、胚盤胞移植により一卵性双胎の発生頻度が増加するのではないかとこの危惧がある。これに関しては我々の経験した症例数では未だ不十分であり、結論は出せないが、今後の課題であると思われる。

これらの課題を含んでいるものの、先に述べた理由から、胚盤胞移植は現時点において ART における品胎予防の有効な手段と考えられる。

さらに、胚盤胞までの培養をより厳密に、効果的に可能とすることが実現されれば、ART の最終目標である単一の胚移植 (Single blastocyst transfer¹¹⁾) による高い妊娠率を得る事も夢ではないと思われる。

文 献

- 1) Kobayashi S, Katoh H, Handa M, et al. (1997) Cryopreservation of all fresh embryos prevent OHSS and increase the pregnancy rate by transferring frozen-thawed embryos in unstimulated cycle. In : Gomel V, Leung PCK (eds), *In vitro* fertilization and assisted reproduction, Monduzzi Editore, Bologna, pp 55-59
- 2) 加藤浩志, 半田雅文, 浜井晴喜, 他 (1998) 乏精子症および無精子症における Y 染色体上の微小欠失の有無の検討. 日受着会誌 15: 80-83
- 3) 小林真一郎 (2000) 卵子の操作 ART ラボラトリー. 鈴木秋悦ら編, メジカルビュー社, 東京, pp 92-97
- 4) 島田知代, 野尻恵子, 原田真木子, 他 (2000) ヒト精子の運動能力と形態異常が IVF-ET における受精率および妊娠率に与える影響について. 日不妊会誌 45: 95-99
- 5) Veeck LL (1991) Atlas of human oocyte and early conceptions. Vol. 2, Willians & Wilkins Co, Baltimore, MD.
- 6) Gardner DK, Schoolcraft WB (1999) *In vitro* culture of human blastocyst. In : Jansen R, Mortimer D (eds), Towards reproductive certainty : infertility and genetics beyond 1999. Carnforth Parthenon Press, Carnforth, pp378-388
- 7) Edwards RG (1995) Clinical approaches to increasing uterine receptivity during human implantation. In : Simon C, Pellicer A (eds), Regulators of human implantation. Hum Reprod vol. 10 supplement 2 Oxford University Press, Oxford, pp60-66
- 8) Scholtes MCW, Zeilmaker GH (1996) A prospective, randomized study of embryo transfer results after 3 or 5 days of embryo culture in *in-vitro* fertilization. Fertil Steril 65 : 1245-1248
- 9) Jones GM, Trounson AO, Gardner DK, et al. (1998) Evolution of a culture protocol for successful blastocyst development and pregnancy. Hum Reprod 13 : 169-177
- 10) Gardner DK, Vella P, Lane M, et al. (1998) Culture and transfer of human blastocysts increases implantation rate and reduces the need for multiple embryo transfers. Fertil Steril 69 : 84-88
- 11) Gardner DK, Lane M, Stevens J, et al. (2000) Blastocyst score affects implantation and pregnancy outcome : towards a single blastocyst transfer. Fertil Steril 73 : 1155-1158
- 12) Peramo B, Ricciarelli E, Cuadros-Fernandez JM, et al. (1999) Blastocyst transfer and monozygotic twinning. Fertil Steril 72 : 1116-1117
- 13) Langendonck AV, Wyns C, Godin PA, et al. (2000) Atypical hatching of a human blastocyst leading to monozygotic twinning : a case report. Fertil Steril 74 : 1047-1050

(受付 : 2001 年 3 月 21 日)

(受理 : 2001 年 5 月 22 日)

Results of Blastocyst Transfer Introduced for Prevention of Triplet Pregnancy in *In Vitro* Fertilization and Embryo Transfer

Masufumi Handa, Makiko Harada, Tomoyo Shimada, Yasuhiro Karasawa, Haruki Hamai, Hiroshi Katoh, Shinichiro Kobayashi and Shinzo Isojima

Advanced Fertility Center, Fuchu Hospital, Osaka 594-0076, Japan

Parallel to the development in Assisted Reproductive Techniques, pregnancy rates have improved. However, this has also led to an increase in multiple pregnancies, in particular triplet pregnancies, which are regarded as a big problem. In order to prevent triplet pregnancies following IVF-ET while maintaining a high pregnancy rate, from May 1999 to July 2000, we cultured embryos for five days if we could retrieve five or more oocytes. If we could get blastocysts on day 5, we transferred a maximum of two blastocysts (Day 5 transfer group). From January 1998 to December 1998, we transferred a maximum of three embryos on day 2 or day 3. In this study, we retrospectively selected the oocyte retrieval cycles in which we could retrieve five or more oocytes (Day 2~3 transfer group). We compared pregnancy rates, implantation rates and multiple pregnancy rates in both groups. In the Day 2~3 transfer group, the pregnancy rate was 41.0% and the implantation rate was 19.2% when two or three morphologically good embryos were transferred, but the frequency of triplet pregnancy was 3.1%. On the other hand, in the Day 5 transfer group, the pregnancy rate was 52.1% and the implantation rate was 32.4% when two blastocysts were transferred. If we omit one very exceptional triplet (we recognized two GS and three fetuses including a monozygotic twin; triplet pregnancy rate 1.4%), no triplet pregnancies were seen in the Day 5 transfer group. Based on these data, we consider blastocyst transfer to be very useful for prevention of triplet pregnancies while maintaining a high pregnancy rate in IVF-ET.

Key words : IVF-ET, blastocyst transfer, triplet pregnancy

(Jpn J Fertil Steril 46 : 143-149 2001)

子宮筋腫合併不妊症例における子宮筋腫核出術の意義

Usefulness of Enucleation of Uterine Myoma for Patients Complicated Sterility

水元久修 Hisanobu MIZUMOTO	斉藤豪 Tsuyoshi SAITO	遠藤俊明 Toshiaki ENDO
西川鑑 Akira NISHIKAWA	芦原康氏 Koji ASHIHARA	田中綾一 Ryoichi TANAKA
	工藤隆一 Ryuichi KUDO	

札幌医科大学医学部産婦人科学講座

Department of Obstetrics and Gynecology, Sapporo Medical University,
School of Medicine, Sapporo 060-0061, Japan

子宮筋腫が直接不妊の原因になるか否かは論議が多く、不妊治療としての子宮筋腫核出術の意義についてはいまだ結論に至っていないが、着床障害因子の一つとなっていることは推察される。今回我々は子宮筋腫を有し、不妊期間が1年以上経過した21例に対して子宮筋腫核出術を行い、12例が妊娠したのでこれらの症例について検討した。術後妊娠率は57%と比較的良好な結果が得られ、術式による妊娠率の比較では腹式子宮筋腫核出術で53%、腔式子宮筋腫核出術で75%であった。摘出物重量と妊娠率についての検討では摘出物重量と術後妊娠率の間に一定の関係はみられず、手術時の年齢と術後妊娠率の関係においても同様であった。筋腫核の存在部位と術後妊娠率についての検討では漿膜下筋腫で60%、筋層内筋腫で64%であったが、筋層内かつ粘膜下筋腫に分類される粘膜下筋腫においては0%であった。術後妊娠成立までの期間は50%が1年以内75%が1年6カ月以内に妊娠の成立をみ、平均は1年2カ月であった。以上より、子宮筋腫核出術後の妊娠率について検討した結果、57%と比較的良好な成績が得られ、子宮筋腫を有する不妊患者に対して有効な治療手段と考えられた。

キーワード：子宮筋腫，不妊，子宮筋腫核出術，腔式子宮筋腫核出術

(日不妊会誌 46: 151-154 2001)

緒言

子宮筋腫が直接不妊の原因になるか否かは論議が多く、不妊治療としての子宮筋腫核出術の意義についてはいまだ結論に至っていないが、筋腫の存在により子宮腔の拡大または狭窄や、卵管の延長、内膜の機能低下を引き起こす可能性があり、着床障害因子となっていることは十分に考えられる。今回我々は、粘膜下筋腫以外の子宮筋腫で不妊期間が1年以上経過した症例に対して子宮筋腫核出術を施行し、21症例中12症例が妊娠したので、これらの症例について検討した。な

お、術式に関しては当教室の工藤らが開発した腔式子宮筋腫核出術についても紹介する¹⁾。

対象と方法

札幌医科大学産婦人科において平成2年4月から平成9年3月までの7年間に、挙児希望を主訴として来院した症例の中で子宮筋腫を認め、不妊期間が1年以上経過した21例に対して子宮筋腫核出術を行った。これらのうち術後妊娠に成功した群(妊娠群)は12例で、非妊娠群は9例であり、これらの症例の年齢、妊娠率、摘出物、手術術式、術後妊娠成立までの期間、妊娠予

後について検討した。

当科における筋腫合併不妊に対する子宮筋腫核出術の適応を以下に示す。

1. 卵巣因子, 卵管因子, 男性因子といった主要不妊因子を有していない。
2. 子宮卵管造影 (HSG) 像または MRI 像にて子宮筋腫が子宮内腔または内膜, 卵管に対して影響をおよぼしていることが推測されるもの。
3. 月経困難症, 過多月経等の臨床症状がみられるもの。

これら 1~3 の項目のうちいずれかの項目を満たしているものについて子宮筋腫核出術を施行した。術前にはほぼ全例において HSG および MRI を施行し, HSG においては子宮内腔, 卵管疎通性ならびに卵管長を, MRI においては筋腫核の部位, 大きさ, 子宮内膜との関係を検討した。今回対象とした 21 例は不妊歴の他に月経困難症あるいは過多月経などの臨床症状がみられており, 手術の適応となった (表 1)。また, 茎を持った粘膜下筋腫の症例においては開腹術 (腹式・腔式) で行うよりも, 子宮内膜に与える損傷ならびに開腹に伴う身体的侵襲もより少ないと判断し, Resectoscopy

表 1 手術対象患者

	術後妊娠群	術後非妊娠群
年齢 (歳)	28~36	28~35
平均 (歳)	31.6	32.8
平均不妊期間	4 年 1 カ月	4 年 9 カ月
術前臨床症状		
月経困難症	2	3
過多月経	6	5
不正性器出血	2	1
下腹部痛	2	0
術前不妊治療		
有り	6	10
無し	2	3

を選択しており今回の検討からは除外した。術式の選択においては, 筋腫核が多発しているもの, 筋層内筋腫の中でも子宮粘膜近くに筋腫核が存在すると考えられるもの, 骨盤内の癒着が予想されるものなどの症例では腹式子宮筋腫核出術を選択し, これらが除外される症例で, 筋腫核が主に子宮体の前方に存在する症例では腔式子宮筋腫核出術を選択した。腹式子宮筋腫核出術は下腹部正中切開で行い, 筋腫核を摘出後, 組織反応性が少ない吸収糸を用いて筋層ならびに漿膜を修復した。当教室の工藤らが開発した腔式子宮筋腫核出術とは Resectoscopy の意味ではなく, 経腔的に膀胱剥離, 膀胱窩腹膜を開放後腹腔内に到達し, 双鉤鉗子にて筋腫核を狭鉗した上, 筋腫核を分割切除して摘出し吸収糸を用いて筋層ならびに漿膜を縫合する術式である¹⁾。

結 果

1) 術後妊娠率と手術術式

手術を施行した 21 例中, 妊娠が成立した症例は 12 例で, 全体を通じての妊娠率は 57% であった (表 2)。

2) 摘出物重量と妊娠率

摘出された筋腫核と術後妊娠率の検討では, 摘出物重量と術後の妊娠率の間に一定の関係はみられなかった (表 3)。また, 摘出物重量と術式における検討では, 腹式子宮筋腫核出術で平均 254g (80~590g), 腔式子宮筋腫核出術で平均 268g (150~410g) であった。

3) 筋腫核の存在部位と術後妊娠率

手術を施行した 21 例の筋腫核の存在部位は, 術前の MRI 所見を参考に術中の肉眼所見をもって最終判断とし, 筋腫核が多発し重複している場合は, 大きな筋腫核が存在している方に分類した (表 4)。粘膜下筋腫の 2 例を含む 4 例においては筋腫核出時に大きな子宮内膜欠損を余儀なくされ, これら 4 例はすべて妊娠の成立を認めなかった。

4) 手術時の年齢と妊娠率

手術時の年齢と術後の妊娠率につき, 年齢を 3 年毎

表 2 手術術式と術後妊娠率

手術術式	妊娠数 / 手術数 (例)	妊娠率 (%)
腹式子宮筋腫核出術	9/17	53
腔式子宮筋腫核出術	3/4	75
計	12/21	57

表 3 摘出物重量と術後妊娠率

摘出物重量	妊娠数 / 手術数 (例)	妊娠率 (%)
100g 以下	1/2	50
101~200g	3/5	60
201~300g	4/7	57
301~400g	3/5	60
401g 以上	1/2	50
計	12/21	57

表 4 筋腫核の存在部位と術後妊娠率

筋腫核の存在部位	妊娠数 / 手術数 (例)	妊娠率 (%)
漿膜下	3/5	60
筋層内	9/14	64
粘膜下	0/2	0
計	12/21	57

に区分して各々の年代別の妊娠率を検討した。なお手術時年齢の最年少は 28 歳、最年長は 36 歳であった。28 歳~30 歳の群で 40% (妊娠数/手術数=2/5)、31 歳~33 歳の群で 64% (7/11)、34 歳~36 歳の群で 60% (3/5) であり、手術時の年齢が高くなるほど術後の妊娠率が低下するなどの傾向はみられなかった。

5) 術後妊娠成立までの期間

術後初回の月経発来より 3 カ月間の待機期間において HSG を施行した後、症例によっては不妊治療を施行し、術後 3 年間に渡って経過観察を行った。妊娠群における術後妊娠成立までの期間は最短 4 カ月、最長 2 年 6 カ月であり、50% が 1 年以内、75% が 1 年 6 カ月以内に妊娠の成立をみ、平均は 1 年 2 カ月であった。

6) 妊娠予後

妊娠の成立をみた 12 例についての妊娠予後は、入院治療が必要な切迫流早産徴候を示したもののや、切迫子宮破裂等の周産期異常を来したものは認められず、全例が正産期で帝王切開術にて分娩に至った。

考 察

不妊症の症例は全夫婦の約 10% と言われているのに対し、子宮筋腫を有する婦人の不妊率は 30~40% であるとの報告も認められる²³⁾。その妊孕性の障害機序が明確に解析されているとは言い難いが、子宮筋腫の存在により子宮内腔の異常や卵管の延長ならびに子宮内膜の機能低下を引き起こす可能性を有していること

は推察される。子宮内腔異常の中でも内腔の拡大や狭小は不妊の原因となりやすく、卵管の延長は、卵子や精子および受精卵の卵管内移動距離の延長をもたらす可能性があることが考えられている¹⁾。

これまでの報告より、筋腫核出術後の妊娠率を見てみると岡村らの報告によれば妊娠率は 57% であり、百瀬らが 47%、荒木らが 70%、杉本らが 58% と報告している^{3,5,7)}。今回、我々の検討では 57% (21 例中 12 例) と従来の報告とほぼ同様の結果が得られた。また、術式による妊娠率の比較では、腹式筋腫核出術で 53% (17 例中 9 例)、腔式子宮筋腫核出術で 75% (4 例中 3 例) であり、腔式子宮筋腫核出術において高い妊娠率を示した。しかし腔式子宮筋腫核出術は前述のように骨盤内の癒着が著しい症例では選択されておらず、また症例が少ないことから、一概に腔式子宮筋腫核出術のほうが妊娠率が高いとは言えないが、侵襲が少なく術後の疼痛も軽度であり、また術後の腹腔内癒着が腹式筋腫核出術と比較して軽度であると考えられることから、有用な術式であることが示唆された。

摘出物重量と術後妊娠率の検討において相関は認められず、Buttram らの筋腫核が大きくなるほど術後の妊娠率が低下するとの報告とは異なる結果であった⁸⁾。一方、岡村らの報告は今回の我々の結果と同様であり、摘出物重量と術後妊娠率との間に相関はなかったとしている。この原因として岡村らは、手術時の年齢が 30 歳未満の場合には 89% の妊娠率が得られていることより、摘出物重量より手術時の年齢が術後妊娠率を左右するとしている¹⁾。しかし今回の検討においては、むしろ 31 歳以上の群で高い妊娠率を示したことから、手術時年齢との間にも一定の関係はみられなかった。

また筋腫核の存在部位と術後妊娠率の検討においては、漿膜下筋腫 (60%) と筋層内筋腫 (64%) はほぼ同様な結果を示したが、筋層内かつ粘膜下に分類される粘膜下筋腫では術後妊娠に至った症例は認められなかった。本来着床障害といった面から考慮すると、粘膜下筋腫は術後最も妊娠率が改善されるべきであると考えられるが、同時に手術操作によって子宮内膜を損傷する危険が最も高いのも事実である。実際、今回の検討において粘膜下筋腫 2 例は子宮内膜の損傷を来しており、また子宮内膜の損傷を余儀なくされた 2 例の筋層内筋腫の症例も妊娠に至っていないことから、症例は少ないが、子宮内膜損傷の有無が術後の妊娠率に

影響を及ぼしている可能性が考えられた。一方漿膜下筋腫、筋層内筋腫の症例においては比較的高い妊娠率が得られていることより、子宮内膜損傷の危険性が少なく、また不妊の原因が他に考えられず、子宮筋腫のみが存在する症例においては、積極的に子宮筋腫核出術を行うことが妊娠率の向上につながるものと考えられた。

術後から妊娠までの期間をみると、75%が1年6カ月以内に妊娠しており、筋腫の再発等も考慮すると、術後数か月の待機期間を置いたあと速やかに妊娠成立の向け努力する必要がある、その場合は症例に応じて積極的に不妊治療を行うべきとも考えられた。

筋腫核出後に妊娠した場合、20~33%の流産率がみられたとの報告もみられるが²⁶⁾、今回妊娠の成立をみた12例については入院治療が必要な切迫流産早産徴候を示したものが、切迫子宮破裂等の周産期異常を来したものは認められなかった。また全例が正期産で帝王切開術にて分娩に至っている。これは高齢、長期にわたる不妊期間ならびに治療、貴重児などの患者背景を考慮した部分が大きく影響しているのは否めないが、分娩様式の選択については今後の検討課題と考えられた。

おわりに

子宮筋腫核出術後の妊娠率について検討した結果、

57%と比較的良好な成績が得られ、子宮筋腫を有する不妊患者に対して有効な治療手段と考えられた。よって本手術は、適応を明確にし、比較的早期に積極的に行われるべきであると考えられた。

文 献

- 1) Hayakawa O, Kudo R, Fujii M, et al. (1995) A new technique of vaginal myomectomy. J Gynecol Tech 1: 99-103
- 2) Manlon LJ, Ingersol FM (1968) Progress in Infertility. In: Behuman SJ, Kistner RW (eds), Little Brown and Co, Boston, pp115-118
- 3) 百瀬和夫, 小島栄吉, 小林信一, 他 (1984) 不妊症における子宮筋腫. 産婦実際 33:727-732
- 4) 楠原浩二, 崎平公子, 寺島芳輝 (1989) 子宮性不妊の病理. 病理と臨床 7: 181-193
- 5) 岡村 均, 中村直樹, 松浦講平 (1990) 不妊婦人における子宮筋腫核出術の予後. 日不妊会誌 35: 169-173
- 6) 杉本 修 (1977) : 子宮筋腫摘除術. 産科と婦人科 44: 257-264
- 7) 荒木芳美, 吉野和男, 内田昭弘, 他 (1988) 不妊症における子宮筋腫と核出術後の妊娠に関する研究. 日不妊会誌 33: 88-91
- 8) Buttram VC Jr, Reiter RC (1981) Uterine leiomyoma: etiology, symptomatology, and management. Fertil Steril 36: 433-445

(受付: 2001年2月15日)

(受理: 2001年6月1日)

Usefulness of Enucleation of Uterine Myoma for Patients Complicated Sterility

Hisanobu Mizumoto, Tsuyoshi Saito, Toshiaki Endo, Akira Nishikawa
Koji Ashihara, Ryoichi Tanaka and Ryuichi Kudo

Department of Obstetrics and Gynecology, Sapporo Medical University,
School of Medicine, Sapporo 060-0061, Japan

Though it is still unclear about whether uterine myoma is a cause of sterility and whether enucleation of myoma is a successful therapy for sterility, it is believed that the myoma obstructs implantation. In this study, we analyzed the pregnancy rate (%) after enucleation of myoma in 21 women who were suffering from sterility but did not have a clear cause except the myoma. After the enucleation, 12 of the 21 (57%) women became pregnant. These consisted of 9 of the 17 (53%) who had the abdominal enucleation and 3 of the 4 (75%) with vaginal enucleation. We could not find any correlation between the age and the pregnancy rate. As for the correlation between the pregnancy rate and the location of the myoma, 3 patients with subserosal myoma became pregnant as did 9 with intramural myoma, whereas 2 with submucosal myoma did not. Six of the 12 (50%) patients became pregnant within 12 months and within 18 months 9 (75%) had become pregnant. The mean was 14 months. From these results, we concluded that the enucleation of myoma is a useful procedure as a therapy for sterility.

Key words: uterine myoma, sterility, myomectomy, vaginal myomectomy

(Jpn J Fertil Steril 46: 151-154, 2001)

体外受精・胚移植における子宮動脈血流改善を目的とした 低用量アスピリン投与の有用性に関する検討

Clinical Evaluation of Low-Dose Aspirin Treatment in IVF
Patients with Poor Uterine Artery Blood Flow

菅谷 進 鈴木 美奈 永田 裕子
Susumu SUGAYA Mina SUZUKI Yuko NAGATA
小島 由美 藤田 和之
Yumi KOJIMA Kazuyuki FUJITA
倉林 工 田中 憲一
Takumi KURABAYASHI Kenichi TANAKA

新潟大学医学部産科婦人科学教室

Department of Obstetrics and Gynecology, Niigata University School of Medicine,
1-757, Asahimachi-dori, Niigata 951-8510, Japan

体外受精・胚移植における endometrial receptivity の指標として超音波ドプラ法を用いた子宮動脈血流測定が有用性が指摘され、子宮動脈の pulsatility index (PI) が 3.0 以上の症例では有意に着床率が低下することが報告されている。今回我々は、体外受精・胚移植時に子宮動脈 PI が 3.0 以上であった症例の再治療周期に血流の改善作用のある低用量アスピリンを投与しその有用性について検討を行った。対象は平成 11 年 6 月から平成 12 年 9 月までの間に当科において体外受精・胚移植（顕微授精を含む）を施行した患者のうち、前回胚移植時の子宮動脈 PI が 3.0 以上であった 20 例とした。対象の平均年齢は 34.7 ± 3.5 歳、体外受精の施行回数は 5.7 ± 1.9 回であった。再治療周期の月経 2 日目より低用量アスピリンを連日投与し体外受精・胚移植を施行し、投与前周期と比較検討した。投与前と投与後の比較では採卵数、受精数、形態良好胚数、受精卵に対する形態良好胚の割合、移植胚数、子宮内膜厚に統計学的差は認められなかったが、子宮動脈 PI は有意な低下を示し (3.63 ± 0.86 vs 2.72 ± 0.81 ; $p < 0.05$)、20 例中 6 例に妊娠が成立した（妊娠率 30.0%）。妊娠群と非妊娠群を比較すると、アスピリン投与前の受精卵に対する形態良好胚の割合が妊娠群において非妊娠群と比較して有意に低値であった ($31.5 \pm 28.7\%$ vs $62.6 \pm 26.7\%$; $p < 0.05$)。低用量アスピリンは子宮動脈の血流を改善させ、妊娠率の向上に寄与するものと考えられた。

キーワード：体外受精・胚移植、低用量アスピリン、子宮動脈血流、endometrial receptivity

(日不妊会誌 46: 155-161 2001)

緒 言

近年、体外受精・胚移植時に子宮動脈 pulsatility index (PI) が 3.0 以上の症例は有意に妊娠率・着床率が

低下することが報告^{1,2)}され、超音波ドプラ法を用いて計測した子宮動脈血流が endometrial receptivity の指標として注目されている。

低用量アスピリンは抗凝固作用（抗血小板作用）を

有し、虚血性心疾患の予防や治療、子宮内胎児発育遅延の予防等に用いられている³⁵⁾。最近では、体外受精・胚移植時に低用量アスピリンの投与を行い子宮動脈や卵巣動脈の血流が改善され妊娠率の上昇が認められたとの報告がなされている⁶⁾。

そこで、我々は胚移植時に子宮動脈 PI が 3.0 以上であった症例の再治療周期に血流の改善を目的に低用量アスピリンを投与し体外受精・胚移植を行い、その臨床的有用性について検討したので報告する。

対象と方法

平成 11 年 6 月から平成 12 年 9 月までの間に当科において体外受精・胚移植（顕微授精を含む）を施行した患者のうち、前回胚移植時の子宮動脈 PI が 3.0 以上であった 20 例を対象とした。

排卵誘発は long 法により行った。治療前周期の高温相 5 日目より酢酸ブセレリン 900 μ g/日の投与を行った。低用量アスピリンは 1 日 81mg を月経周期 2 日目より連日経口投与した。月経周期 3 日目より hMG/FSH150 単位もしくは 300 単位を連日投与、経陰超音波断層法で卵胞計測を行い次席卵胞が 18mm を越えた時点で hCG10,000 単位を投与、その 34 時間後に経陰的に採卵を行った。採卵後、37 $^{\circ}$ C、5%O₂、5%CO₂、90%N₂ の培養器内で 4~6 時間の前培養を行った後、swim up 法または percoll 法で回収した良好精子を用い媒精（媒精精子濃度 50 万/ml）または ICSI を行った。その 14~18 時間後に受精の確認を行い、さらに 24 時間追加培養を行った。

胚移植直前に経陰超音波装置（aloka SSD-2000）を用いて、子宮動脈血流計測を行った。カラードプラで子宮動脈上行枝の血流波形を描出し PI を算出、左右子宮動脈 PI の平均値を解析に用いた。その後、Veeck 分類に従い形態良好胚を選別し胚移植を行った。なお、移植胚数は 3 個以内とした。妊娠判定は胚移植の 16 日後に行い、胎嚢が確認された症例を妊娠例とした。低用量アスピリンは妊娠判定日もしくは超音波断層法で胎児心拍が確認された時点まで内服を続けた。なお、すべての値は Mean \pm SD で表し、データの統計的処理には t 検定および χ^2 検定を用いた。

結 果

1. 20 例の臨床的背景（表 1）

対象者の年齢は平均 34.7 \pm 3.5 歳（29 歳~42 歳）であった。対象者の今回の体外受精の施行回数は平均 5.7 \pm 1.9 回（2 回~8 回）であった。適応は卵管因子が 3 例、子宮内膜症が 5 例、原因不明長期不妊が 4 例、男性因

表 1 患者の背景

年齢(歳)	34.7 \pm 3.5(29~42)
回数	5.7 \pm 1.9(2~8)
適応	
卵管	3(15.0%)
子宮内膜症	5(25.0%)
原因不明	4(20.0%)
男性	8(40.0%)
顕微授精	8(40.0%)

表 2 投与前後の比較

	投与前	投与後
hMG 総投与量(IU)	2,533.3 \pm 828.9	2,763.9 \pm 889.3
hCG 時 E ₂ (pg/ml)	1,113.3 \pm 715.4	1,281.9 \pm 751.7
穿刺卵胞数	8.3 \pm 4.0	10.0 \pm 3.9
採卵数	6.7 \pm 3.7	6.2 \pm 2.5
受精数	3.9 \pm 2.1	3.8 \pm 1.5
受精率(%)	64.6 \pm 26.8	65.9 \pm 25.0
形態良好胚数	1.9 \pm 1.0	1.9 \pm 1.2
形態良好胚 / 受精卵(%)	52.4 \pm 29.9	50.9 \pm 31.8
移植胚数	2.4 \pm 0.8	2.2 \pm 0.9
形態良好胚 / 移植胚(%)	75.9 \pm 33.9	81.5 \pm 38.3
子宮内膜厚(mm)	11.5 \pm 3.4	11.1 \pm 2.7
子宮動脈 PI	3.63 \pm 0.86 ^a	2.72 \pm 0.81 ^b

a-b ; p<0.05

表 3 患者の背景

	妊娠群	非妊娠群
年齢(歳)	34.2±4.0	35.0±3.4
回数	5.7±2.6	5.7±1.6
適応		
卵管	0	3(21.4%)
子宮内膜症	1(16.7%)	3(21.4%)
原因不明	2(33.3%)	3(21.4%)
男性	3(50.0%)	5(35.7%)
顕微授精	3(50.0%)	5(35.7%)

表 4 妊娠群・非妊娠群における投与前後の比較

	投与前		投与後	
	妊娠群	非妊娠群	妊娠群	非妊娠群
hMG 総投与量(IU)	2,625.0±908.7	2,522.7±855.1	2,666.7±471.9	2,618.2±852.1
hCG 時 E ₂ (pg/ml)	1,333.3±831.1	1,090.9±667.0	1,300.0±1,011.9	1,343.1±619.0
穿刺卵胞数	9.7±3.9	8.0±3.9	10.7±3.6	10.0±4.2
採卵数	7.5±3.6	6.6±3.9	7.2±3.3	5.9±1.8
受精数	3.8±2.4	4.0±2.1	4.3±0.8	3.6±1.9
受精率(%)	54.0±28.1	67.1±24.9	69.5±24.6	60.9±24.7
形態良好胚数	1.5±1.4	2.1±0.7	2.0±1.3	1.8±1.3
形態良好胚/受精卵(%)	31.5±28.7 ^a	62.6±26.7 ^b	47.2±28.9	48.4±32.3
移植胚数	2.0±0.9	2.6±0.7	2.5±0.8	2.0±1.0
形態良好胚/移植胚(%)	66.7±51.6	81.8±22.9	77.8±40.4	81.8±40.5
子宮内膜厚(mm)	11.5±2.7	11.6±3.9	11.9±0.8	10.9±3.3
子宮動脈 PI	3.74±0.90 ^e	3.37±0.56 ^c	2.83±1.36 ^d	2.64±0.42 ^f

a-b, c-d, e-f ; p<0.05

子が 8 例であった。顕微授精 (ICSI) は 8 例に施行した。

2. 20 例の低用量アスピリン投与前後の比較 (表 2)

hMG 総投与量, hCG 切り替え時の血中 E₂, 穿刺卵胞数ともに投与前に比較して投与後でやや高いものの統計学的差は認められなかった。採卵数, 受精数, 受精率も同様に投与前後で有意差は認められなかった。形態良好胚 (Veeck 分類の Grade 1 および Grade 2), 受精卵に対する形態良好胚の割合, 移植胚数, 移植胚に対する形態良好胚の割合, 胚移植時に経膈超音波断層法で測定した子宮内膜厚に関しても統計学的差は認められなかった。胚移植時の子宮動脈 PI は, 投与前 3.63±0.86, 投与後 2.72±0.81 であり有意に子宮動脈 PI の低下が認められ (p<0.05), 低用量アスピリンの投与は子宮動脈血流の改善に有効であることが明らかとなった。20 症例中 6 例に妊娠が成立した (妊娠率 30.0%)。妊娠例のうち多胎は 1 例 (双胎) であった。

3. 妊娠群 6 例と非妊娠群 14 例の臨床的背景 (表 3)

ここで妊娠群 6 例と非妊娠群 14 例の臨床的背景について差があるか否かを比較した。平均年齢は妊娠群 34.2±4.0 歳, 非妊娠群 35.0±3.4 歳であり有意な差は認められなかった。体外受精の回数は妊娠群 5.7±2.6 回, 非妊娠群 5.7±1.6 回であり差は見られなかった。体外受精の適応, および顕微授精を施行した患者の割合に関しても両群間で有意差は認められなかった。

4. 妊娠群・非妊娠群における低用量アスピリン投与前後の比較 (表 4)

まず, 妊娠群および非妊娠群の低用量アスピリン投与前の状態に差が認められたか否かを明らかにするために両群間で比較をおこなったが hMG 総投与量・hCG 切り替え時 E₂・穿刺卵胞数・採卵数・受精数に差は認められなかった。受精率は妊娠群 54.0±28.1%, 非妊娠群 67.1±24.9%, 形態良好胚数は各々 1.5±1.4 個, 2.1±0.7 個で共に非妊娠群でやや高いものの, 有意

差はなかった。受精卵に対する形態良好胚の割合は妊娠群 $31.5 \pm 28.7\%$ 、非妊娠群 $62.6 \pm 26.7\%$ であり妊娠群において有意に低値であった ($p < 0.05$)。移植胚数は妊娠群 2.0 ± 0.9 個、非妊娠群 2.6 ± 0.7 個であり妊娠群で少ないものの有意差は認められなかった。また、移植胚に対する形態良好胚の割合は妊娠群 $66.7 \pm 51.6\%$ 、非妊娠群 $81.8 \pm 22.9\%$ であり同様の傾向が認められたが有意差はなかった。子宮内膜厚・子宮動脈 PI に統計学的差は認められなかった。

次に、妊娠群における低用量アスピリン投与に伴う影響について比較検討を行った。hMG 総投与量・hCG 切り替え時 E_2 ・穿刺卵胞数・採卵数に差は認められなかった。受精数・受精率・形態良好胚数・受精卵に対する形態良好胚の割合・移植胚数・移植胚に対する形態良好胚の割合はいずれも投与後に高値であったが、統計学的有意差は認められなかった。子宮動脈 PI は投与前 3.74 ± 0.90 であったのに対し投与後 2.83 ± 1.36 であり、投与後に有意に低下を示した ($p < 0.05$)。子宮内膜厚に有意差は認められなかった。

次に、非妊娠群において投与前後の変化の比較を行ってみると、受精卵に対する形態良好胚の割合は投与前 $62.6 \pm 26.7\%$ 、投与後 $48.4 \pm 32.3\%$ 、また、移植胚数は投与前 2.6 ± 0.7 個、投与後 2.0 ± 1.0 個であり共に投与後に低い値を示したが有意差は認められなかった。子宮動脈 PI は妊娠群と同様に投与後に有意な低下が認められた (3.37 ± 0.56 vs 2.64 ± 0.42 ; $p < 0.05$)。その他の項目に関して統計学的な差は認められなかった。

最後に両群間において低用量アスピリン投与後の比較を行ったが、すべての項目において統計学的有意差は認められなかった。

考 察

我々は、胚移植時に子宮動脈 PI が 3.0 以上であった症例に対し、再治療周期の月経 2 日目より低用量アスピリンを投与し体外受精・胚移植を行うことにより、子宮動脈 PI の有意な低下が認められ 30.0% の妊娠率を得た。

着床に関わる因子については多くの研究がなされている。経陰超音波断層法は検査が簡単で非侵襲的であり繰り返し検査が施行できることより頻用され、超音波断層法で測定した子宮内膜厚や子宮内膜像が endometrial receptivity の指標として有用であるとする意見が多く見受けられるが^{9,10}、それを否定する報告¹¹も散見される。

Endometrial receptivity の指標として近年経陰超音波ドプラ法を用いた子宮動脈血流計測の有用性が指摘されている。Steer ら¹⁾は胚移植時の子宮動脈 PI が 3.0 以上の症例では妊娠率が有意に低下すると報告し、胚移植時の子宮動脈 PI が endometrial receptivity の指標になることを示した。また、Zaidi ら¹²⁾は hCG 切り替え時の子宮動脈 PI が 3.0 以上の患者は 3.0 未満の患者と比較して有意に着床率が低率であったことを報告している。さらに、Cacciatore ら²⁾は体外受精にて 42 人中 11 人 (26.2%) に妊娠が成立したが、子宮動脈 PI が 3.0 未満の患者の妊娠率は 34.5% (10/29) であったのに対し 3.0 以上での妊娠率は 7.7% (1/13) であり子宮動脈 PI が 3.0 以上の症例での妊娠率は有意に低値であることを報告した。これらのことから、子宮動脈 PI が 3.0 以上の症例に対して Steer らは胚の凍結保存を、Zaidi らは子宮動脈 PI が改善するまで hCG の投与を遅らせることを推奨している。

低用量アスピリンは血小板に選択的に作用し、cyclooxygenase を抑制、血小板での Thromboxane A₂ の生成を抑制することにより血流を改善させる作用があることが知られている^{13,15)}。このような点から低用量アスピリンは脳血管障害の予防や治療^{3,4)}、子宮内胎児発育遅延の予防⁵⁾などに広く用いられている。

生殖医学の分野においても近年、体外受精・胚移植時やホルモン補充周期法 (HRT) による胚移植時の子宮や卵巣動脈の血流改善を目的に低用量アスピリンを併用する報告が認められている^{6,8)}。Rubinstein ら⁶⁾は、体外受精の患者に前周期の黄体期中期から低用量アスピリン 100mg を連日投与し long protocol で排卵誘発を行ったところ、非投与群と比較して卵胞数・採卵数・hCG 切り替え時 E_2 ・着床率・臨床的妊娠率が有意に高率であったことを報告した。さらに、非投与群と比較して投与群では hCG 切り替え時に測定した子宮動脈 PI および卵巣動脈 PI が有意に低下したことを示した。また、Wada ら⁷⁾は HRT による凍結融解胚移植において子宮動脈血流不良症例の再治療周期の day 1 および day 13 より低用量アスピリンの投与を行ったところ day 1 より投与した群の妊娠率は 47.0%、day 13 より投与した群では 17.0% であり day 1 群で有意に妊娠率が高率であったと報告した。さらに Weckstein ら⁸⁾は、8 mm 以下の thin endometrium の oocyte donation recipients に低用量アスピリンの投与を行ったところ非投与群と比較して有意に着床率の上昇が認められたと報告、その理由として低用量アスピ

リンの子宮動脈血流改善効果により endometrial receptivity が改善し着床率が上昇したのであると述べている。

今回我々は体外受精・胚移植における子宮動脈血流不良症例(子宮動脈 PI が 3.0 以上)に対し血流の改善を目的に低用量アスピリンの投与を行った。我々の成績では低用量アスピリンの効果により有意に子宮動脈 PI の低下が認められ、20 例中 6 例(30.0%)に妊娠が成立した。本研究における対象症例は平均体外受精施行回数が 5.7 回(2~8 回)でありいわゆる反復不成功例である。5 回以上体外受精を行っている患者の妊娠率は文献上 5.9%¹⁶⁾、16.2%¹⁷⁾、21.0%¹⁸⁾などと報告されているが、今回の研究で得られた妊娠率はこれらの報告と比較し明らかに高率である。したがって、子宮動脈血流改善を目的とした低用量アスピリンの投与は妊娠率の向上に極めて有用であると考えられる。

低用量アスピリンの投与に伴う血流の改善は子宮動脈に特異的なものではなく、卵巣動脈にも影響を与えることが報告されている⁶⁾。低用量アスピリン投与群では非投与群に比較して採卵数・hCG 切り替え時 E₂・採卵数が有意に増加することが報告⁶⁾されており、低用量アスピリンは endometrial receptivity のみでなく follicular growth にも関与すると考えられる。我々の 20 例全体の成績では、投与前に比較して投与後に hCG 切り替え時 E₂、穿刺卵胞数が高値ではあったものの統計学的有意差は認めず、また採卵数も差は見られなかった。この原因として、体外受精の施行回数が平均 5.7 回と多く hMG に対し卵巣の反応性が低下している可能性が考えられるが、follicular growth の関与の有無に関しては今後子宮動脈と同時に卵巣動脈の血流計測も併せて行い、さらに症例を追加し検討する必要があると考えられた。

低用量アスピリンは oocyte および embryo quality に影響を与えるのであろうか。これらを明らかにするために 20 症例の投与前後における受精数・受精率・形態良好胚数・受精卵に対する形態良好胚の割合・移植胚数・移植胚に対する形態良好胚の割合の比較を行った。しかし、すべてにおいて有意差は見られず、oocyte および embryo quality には影響は及ぼさない可能性が示された。これは、妊娠群での比較でも同様の結果であった。これらのことから embryo quality の上昇ではなく、子宮動脈 PI の低下に伴う endometrial receptivity の改善が妊娠成立に寄与したものと推察する。

今回の我々の成績では、低用量アスピリン投与により妊娠群だけではなく非妊娠群においても同様に子宮動脈 PI の有意な低下が認められた。そこで我々は妊娠例と非妊娠例との間の相違点を明らかにする目的で、患者背景や低用量アスピリン投与前の状態の比較を行った。結果は両群間の患者背景に差は認められなかったが、受精数・受精率・形態良好胚数・移植胚数・移植胚に対する形態良好胚の割合は有意ではないもののいずれも妊娠群で低く、かつ受精卵に対する形態良好胚の割合は妊娠群において有意に低値であった。この結果は形態良好胚の割合が低い患者にアスピリンは有効であることを意味するものと思われる。しかし、今回は少数例での検討であるため今後症例を重ね再度検討する必要があると考えられた。

当科では現在胚移植を行う患者全員に子宮動脈 PI の計測を行い子宮動脈 PI が 3.0 以上の症例の再治療周期に低用量アスピリンの投与を行っている。この治療は 2 回目以降の患者には施行可能であるが初回の体外受精の患者には行うことはできない。胚移植時に子宮動脈 PI が 3.0 以上である割合は 31% と報告されている²⁾が、胚移植時の子宮動脈 PI 値を予測できれば初回の患者にも投与を行うことが可能であり、これらの患者の妊娠に寄与することができるであろう。自然排卵周期の 16 日目前後と胚移植時の子宮動脈 PI が同等であれば、自然周期で計測した子宮動脈 PI が 3.0 以上である患者に対し初回の体外受精時よりアスピリンの投与を行うことが出来る。しかし、子宮動脈 PI は自然周期と比較して卵巣刺激周期では低下することが明らかにされている²⁾。これらのことより現時点では初回の患者の胚移植時の子宮動脈 PI を予測しアスピリンの投与を行うことは困難であると思われる。これに関しては今後の検討課題であると考えられる。

今回の結果より、子宮動脈血流を改善させる目的で投与する低用量アスピリンは体外受精・胚移植に非常に有用であることが明らかとなった。今回は体外受精の施行回数が多い症例が中心となったが、今後は施行回数のより少ない(例えば 2~3 回)症例に対して投与を行い、follicular growth と endometrial receptivity の双方についてアスピリンの投与を行わないコントロール群と比較検討を行う予定である。

本論文の要旨は第 45 回日本不妊学会学術総会(2000 年 11 月 24 日、神戸市)において発表した。

文 献

- 1) Steer CV, Mills C, Campel S, et al. (1992) The use of transvaginal color flow imaging after *in vitro* fertilization to identify optimum uterine conditions before embryo transfer. *Fertil Steril* 57 : 372-376
- 2) Cacciatore B, Tiitinen A (1996) Does Ovarian Stimulation Affect Uterine Artery Impedance? *J Assist Reprod Genet* 13 : 15-18
- 3) Williard JE, Lage R, Hills LD (1992) The use of aspirin in ischemic heart disease. *N Engl J Med* 327 : 175-181
- 4) Fuster V, Dyken ML, Vokonas PS (1993) Aspirin as a therapeutic agent in cardiovascular disease. *Circulation* 87 : 659-675
- 5) Wallenberg HC, Rotman SN (1987) Prevention of recurrent idiopathic fetal growth retardation by low-dose aspirin and dipyridamole. *Am J Obstet Gynecol* 157 : 1230-1235
- 6) Rubinstein M, Marazzi A, de Fried EP (1999) Low-dose aspirin treatment improves ovarian responsiveness, uterine and ovarian blood flow velocity, implantation, and pregnancy rates in patients undergoing *in vitro* fertilization : a prospective randomized, double-blind placebo-control assay. *Fertil Steril* 71 : 825-829
- 7) Wada I, Hsu CC, Williams G, et al. (1994) The benefits of low-dose aspirin therapy in women with impaired uterine perfusion during assisted conception. *Hum Reprod* 9 : 1954-1957
- 8) Weckstein L, Hampton K, Jacobson A, et al. (1997) Low-dose aspirin for oocyte donation recipients with a thin endometrium : prospective, randomized study. *Fertil Steril* 68 : 927-930
- 9) Glissant A, de Mouzon J, Frydman R, et al. (1985) Ultrasound study of the endometrium during *in vitro* fertilization cycles. *Fertil Steril* 44 : 786-790
- 10) Gonen Y, Casper RF (1990) Prediction of implantation by the sonographic appearance of the endometrium during controlled ovarian stimulation for *in vitro* fertilization (IVF). *J In Vitro Fert Embryo Trans* 7 : 146-152
- 11) Oliveira JBA, Baruffi RLR, Mauri AL, et al. (1993) Endometrial ultrasonography as a predictor of pregnancy in an *in-vitro* fertilization programme. *Hum Reprod* 8 : 1312-1315
- 12) Zaidi J, Kyei-Mensah A, Pittrof R, et al. (1996) Assessment of uterine artery blood flow on the day of human chorionic gonadotropin administration by transvaginal color Doppler ultrasound in an *in vitro* fertilization program. *Fertil Steril* 65 : 377-381
- 13) Smith JB, Wills AL (1971) Aspirin selectively inhibits prostaglandin production in human platelets. *Nature (New Biol)* 231 : 235-237
- 14) Patrignani P, Filabozzi P (1982) Selective cumulative inhibits of platelet thromboxane production by low-dose aspirin in healthy subjects. *J Clin Invest* 69 : 1366-1372
- 15) Moncada S, Vane JR (1979) Arachidonic acid metabolites and the interactions between platelets and blood vessel walls. *N Engl J Med* 300 : 1142-1147
- 16) Haun G, Bernardus RE, Hollanders JMG, et al. (1991) Results of IVF from a prospective multicenter study. *Hum Reprod* 6 : 805-810
- 17) FIVNAT (French *In Vitro* National). (1993) French national IVF registry : analysis of 1986 to 1990 data. *Fertil Steril* 59 : 587-595
- 18) Meldrum DR, Silverberg KM, Bustillo M, et al. (1998) Success rate with repeated cycles of *in vitro* fertilization-embryo transfer. *Fertil Steril* 69 : 1005-1009

(受付 : 2001 年 4 月 3 日)

(受理 : 2001 年 6 月 5 日)

Clinical Evaluation of Low-Dose Aspirin Treatment in IVF Patients with Poor Uterine Artery Blood Flow

Susumu Sugaya, Mina Suzuki, Yuko Nagata, Yumi Kojima
Kazuyuki Fujita, Takumi Kurabayashi and Kenichi Tanaka

Department of Obstetrics and Gynecology, Niigata University School of Medicine,
1-757, Asahimachi-dori, Niigata 951-8510, Japan

It has been reported that the patients who have a uterine artery pulsatility index (PI) >3.0 on the day ET is taken have low pregnancy rates, which indicates that the measurement of the uterine artery PI is a good method of assessing endometrial receptivity in IVF patients. The aim of this study was to evaluate the effect of low-dose aspirin treatment in patients with uterine artery PI >3.0 to improve the outcome of IVF-ET. Twenty women, who had uterine artery PI >3.0 on the day their previous ET was taken, were recruited for this study. The mean age was 34.7 years, and the mean number of IVF cycles was 5.7 cycles. The patients received a 81 mg dose of aspirin daily on the second day of the COH cycle. There were no significant differences between the previous cycle group and the aspirin treatment cycle group in terms of the number of oocytes retrieved or fertilized, good quality embryos, embryos transferred, nor in the percentage of good quality embryos per oocyte fertilized, in the endometrial thickness. The PI of the uterine artery on the day ET was taken was significantly lower in the aspirin treatment cycle group than in the previous cycle group (2.72 ± 0.81 versus 3.63 ± 0.86 , respectively, $p < 0.05$). The clinical pregnancy rates were 30.0% (6/20). The percentage of good quality embryos per oocyte fertilized in the previous cycle was significantly lower in the pregnancy group than in non-pregnancy group. Low-dose aspirin treatment significantly improves uterine arterial blood flow and pregnancy rates in patients with high uterine artery PI.

Key words : IVF-ET, low-dose aspirin, uterine artery pulsatility index, endometrial receptivity

(Jpn J Fertil Steril 46 : 155-161 2001)

未成熟卵子体外培養による妊娠成功の1例： 胚と子宮内膜の同期化の試み

Successful *In Vitro* Maturation (IVM) of Immature Oocytes and Pregnancy : An Attempt of Frozen-Thawed Embryos Transfer in Hormone Replacement Cycle for Synchronization

千葉 せつよ

Setsuyo CHIBA

京野 廣一

Koichi KYONO

拝郷 浩佑

Kosuke HAIGO

佐藤 智子

Tomoko SATO

福永 憲隆

Noritaka FUKUNAGA

レディースクリニック京野 婦人科泌尿器科

Department of Gynecology and Urology, Lady's Clinic Kyono, Miyagi 989-6221, Japan

未成熟卵子を体外培養し、第2減数分裂中期 (metaphase II : MII) となった卵に卵細胞質内精子注入法 (Intracytoplasmic sperm injection : ICSI) を行い、得られた前核期胚を凍結保存し、胚と子宮内膜の同期化を図る目的で、2カ月後のホルモン補充周期に凍結胚の融解後に2~3細胞期胚を子宮内に移植し妊娠例を得たので報告する。

キーワード：未成熟卵子，体外培養，前核期胚，同期化，ホルモン補充周期

(日不妊会誌 46: 163-166, 2001)

緒言

非刺激周期に行う未成熟卵子の体外培養は卵巣刺激のための GnRHagonist, hMG, FSH, hCG を使用しないため経済的、時間的、肉体的、精神的負担ならびに卵巣過剰刺激症候群の副作用を回避できる。しかし、1) 至適な成熟培養法と2) 胚と子宮内膜の同期化の2つの大きな問題があり、現状としては妊娠率も低い。今回大きな二つの問題の内、子宮内膜と胚の同期化の解決を試みた。すなわち未成熟卵子を体外成熟培養し、得られた MII 卵に ICSI し、前核期胚で凍結保存を行う。2カ月後にホルモン補充周期で胚を融解・培養し、子宮内膜と同期化させて胚移植する。この方法により妊娠に成功した例を得たので報告する。

症例報告

患者は34歳、原発性不妊症、不妊期間5年、某医で続発性無月経、多嚢胞性卵巣症候群 (PCOS) と診断され、腹腔鏡下のレーザー治療や hMG-hCG 療法をすすめられていた。しかし手術や卵巣過剰刺激症候群の副作用を懸念し、長年、漢方治療を行っていた。超音波検査にて PCOS 様を呈し、黄体ホルモン投与による消退出血3日目のホルモン値は LH 5.4mIU/ml, FSH 4.3 mIU/ml, E₂ 40.6pg/ml, PRL 30.4ng/ml であった。未成熟卵子体外培養の長所・短所、国内外の現状を説明し、インフォームドコンセントを得て実施した。消退出血17日目に、17ゲージ外筒針と20ゲージ内筒針を組み合わせた2重針 (K-MIN1720-VUB, Cook, Australia) を用いて、5~8mm の卵胞を穿刺し、両側卵巣からあわせて12個の未成熟卵子を採取した。Tissue

Culture Medium199:TCM 199, Estradiol: E₂ water soluble 10ng/ml, Follicular Stimulation Hormone: FSH 10IU/ml, human Chorionic Gonadotropin: hCG 20IU/ml, 20% Follicular Fluid: FFにて5% CO₂, 5% O₂, 90% N₂, 37°Cの環境下に体外培養した。24時間後12個の内、6個がMIIになったことを確認し、それらにICSIした^{1,2)}。翌日6個すべてが前核期胚になったが、子宮内膜が薄い(5.1mm)ことより胚移植を行わず、プロバンダイオールを用いた緩凍凍結法³⁾により全凍結した。2カ月後、ホルモン補充周期(エストラダームM, ノバルテイス:隔日2~3枚貼付)に内膜が8mm以上になったことを確認し、プロゲホルモン(持田)50mgを連日14日間投与した。黄体ホルモン投与開始翌日、融解し16日目に2細胞期胚1個、3細胞期胚2個のあわせて3個(Veeck分類:Grade 2)を移植した。移植後13日目に血中hCG 253mIU/ml, 22日目(妊娠5週2日)に胎嚢8mm, 26日目(妊娠5週6日)に胎嚢11mm, 卵黄嚢を確認した。残念ながら、妊娠8週で超音波により稽留流産と診断し、流産手術を行った。絨毛組織検査では46XXと正常核型であった。

現在まで8名の患者に*In Vitro* Maturation:IVMを施行した。70個のGerminal Vesicle:GV期卵を得られ、24時間の培養で50.1%(36/70)がMII期に成熟した。それらの36個のMII期卵にICSIした結果77.8%(28/36)が受精した。初めの6例はそのまま培養し、2~8細胞期胚を移植したが妊娠に至らなかった。残りの2例は前核期で凍結保存し、2~3カ月後に凍結融解した胚を2~8細胞期まで培養し、ホルモン補充周期に移植した。そのうちの1例が妊娠に成功した。

考 察

非刺激周期に行う未成熟卵の体外培養法の長所はGnRHaとGonadotropinによる卵巣刺激法の時間的、経済的、肉体的、精神的苦痛ならびに、卵巣過剰刺激症候群の回避である。ただし、この方法を用いたAdvanced Reproductive Technology:ARTの成績は、現時点では卵巣刺激した卵巣から採取された成熟卵を用いたARTの成績に比較し、妊娠率が低く、多くの課題がある。Cha KY et al.⁴⁾(1991)によれば、手術時に摘出された卵巣より未成熟卵を回収し、体外成熟培養により得られた成熟卵を用いて受精卵を得、ドナー胚として移植し、妊娠に成功した。1994年にはTrousseau et al.⁵⁾がPCOSの患者から未成熟卵を採取し、

体外成熟培養後の体外受精による胚を移植し、妊娠に成功した。それ以降、主にPCOS症例に不妊治療の一つとして試みられている^{1,2,7,8)}。日本では福田等¹⁾が非刺激周期の体外成熟培養と顕微授精を組み合わせることで妊娠出産に成功している。今回、我々は胚と子宮内膜の同期化を行うことにより妊娠例を得ることができた。そこで未成熟卵の体外成熟培養から胚移植までの問題点を考察する。

卵時期の基本は非刺激周期の場合、数個の正常なGV期卵を得るために、主席卵胞が決定される前、すなわち主席卵胞径が10mm以内を原則とする^{1,2,5)}。

至適な時期についてはMikkelsen AL et al.⁶⁾が血中oestradiol(D3より100%増加した場合)、血中inhibin A(D3より80%増加した場合)を指標にして、採卵あたり24%の妊娠率を報告している。しかし、まだまだ大まかな指標であり、今後その至適時期をさらに極める事により、良質のGV期卵が得られるものと期待される。現在、多くは非刺激周期に採卵されているが、前の周期の黄体期(自然排卵がある場合はLuteinizing Hormone(LH) surgeから11日目、続発性無月経の時はプロゲステロン投与9日目)から少量のFSHを投与して採卵する報告もある⁷⁾。Nagy ZP et al.⁸⁾はGnRHa-hMG-hCG周期に採卵し、14個すべてがGV期卵だった症例にIVMを行い、健康な女兒の出産の報告を行った。その後、同じ施設のNogueira D et al.⁹⁾はGnRHa-hMG-hCG投与後に得られた75個のGV卵を体外成熟培養し、54個のMII卵にICSIを行った後の受精率(70.3%)、分割率(79.0%)、分割卵の染色体分析をした。その結果、14個の受精卵の内11個(78.5%)に異数性の染色体異常を認めた。

採卵技術は10mm以下の卵胞を穿刺するので、困難ではあるが、麻酔、採卵針(17ゲージ+20ゲージ¹⁾、17ゲージ²⁾、吸引圧(300mmHg¹⁾、70mmHg²⁾、ヘパリン濃度(採卵時培養液に20~40IU/ml)の工夫により平均8個以上の採卵が可能である(自験)。成熟培養の改善も重要である。我々の施設では培養液はTCM 199を基本にoestradiol, FSH, hCG, 卵胞液を添加しているが、cytoplasmic maturationが不十分で、GV期からMII期までの成熟率もまだ低い(24時間での成熟培養で約50%)。

1998年Groud PT et al.¹⁰⁾は卵丘細胞のついたまま未成熟卵をMedium199(M-199)にHuman serum albumin(HSA), pyruvate, 17β-oestradiol, FSH, hCG, Epidermal Growth Factor(EGF)を添加した培養液で

培養し、30 時間後に 81.8% が MII へ成熟したと報告している。しかし ICSI 後の受精率は 71.7% と良好な結果を示しているが 4~8 細胞期以降の細胞分裂停止の頻度が高いとも報告している。Hwu YM et al. は胚盤胞までの到達率を上げる為に前核期からヒト卵管膨大部細胞と共培養を行い、良好な結果を得ている¹¹⁾。現状ではどのような物質が未成熟卵に対し、促進あるいは阻害に作用するのか不明の点が多く、適正な体外成熟培養液が完成するまでは、とりあえず、妊娠した症例の卵胞液を使用するのが良いと思われる¹⁾。未成熟卵子の体外培養時間について、福田等は妊娠をもたらした胚はすべて 24 時間以内に成熟した GV 期卵由来であったと述べているが、Smith SD et al. は 24 時間後と 36 時間後で同様の妊娠率 (14% vs 15%) あったと報告している¹²⁾。IVM の場合、透明帯が未熟(硬い)なため ICSI, Assisted Hatching(AH)¹³⁾が不可欠である。また胚と子宮内膜の同期化も大切な成功の要因である。特に未成熟卵を採取した周期に移植する場合は、胚と子宮内膜の進行速度が大きく異なるため同期化が必要である^{1,2,5)}。そのためには子宮内膜の発育促進が必要であり、採卵当日に oestradiol を投与し、2 日後に hCG 10,000IU を 1 回投与、プロゲステロンは妊娠反応の測定まで継続投与し¹⁾、子宮内膜が 8mm 以上の時に胚移植をする^{1,2)}。着床率の向上のため、Zygote Intrafallopian Transfer : ZIFT + Embryo Transfer : ET を併用すること²⁾や我々のように前核期で凍結し、ホルモン補充周期に融解培養後に同期化させて子宮内に移植するのも一つの方法と考えられる。現時点での IVM の妊娠率は報告により数%~27%^{1,2,5,6)}とばらつきがあるが、一般の卵巣刺激による妊娠率と比べ、低いことは明らかである。今後は、至適採卵の時期、採卵技術、未成熟卵の体外培養環境、着床環境の改善により妊娠率の向上をめざす必要がある。

今回、我々は未成熟卵体外成熟培養法の妊娠率向上の手段として採卵周期に戻さず、前核期で凍結保存し、2~3 カ月後に融解培養してホルモン補充周期に子宮内膜と同期化させて移植することにより妊娠例を得たので報告した。

文 献

- 1) 福田愛作, 河田 淳, 當仲 正文, 他(2001)非刺激周期婦人よりの未受精卵体外受精の試み, 日本受精着床学会誌 (in press)
- 2) Cha KY, Han SY, Chung HM, et al.(2000) Preg-

nancies and deliveries after *in vitro* maturation culture followed by *in vitro* fertilization and embryo transfer without stimulation in women with polycystic ovary syndrome. Fertil Steril 73 : 978-983

- 3) 横田佳昌, 小原満雄, 横田美賀子, 他(1995)当院における新鮮胚移植と凍結胚移植の治療成績, 群馬県産婦人科医会誌 3 : 33-39
- 4) Cha KY, Koo JK, Choi DH, et al. (1991) Pregnancy after *in vitro* fertilization of human oocytes collected from nonstimulated cycles, their culture *in vitro* and their transfer in a donor oocyte program. Fertil Steril 62 : 353-362
- 5) Trounson A, Wood C, Kaushe A (1994) *In vitro* maturation and the fertilization and development competence of oocytes recovered from unstimulated polycystic patients. Fertil Steril 62 : 353-362
- 6) Mikkelsen AL, Smith SD, Lindenberg S (2000) Impact of oestradiol and inhibin A concentrations on pregnancy rate *in vitro* oocyte maturation. Hum Reprod 15 : 1685-1690
- 7) Suikkari AM, Tuppalä M, Tuuri T, et al.(2000) Luteal phase start of low-dose FSH Priming of follicles results in an efficient recovery, maturation and fertilization of immature human oocytes. Hum Reprod 15 : 747-751
- 8) Nagy ZP, Locuffier A, Cecile J, et al.(1996) Pregnancy and birth after intracytoplasmic sperm injection of *in vitro* matured germinal-vesicle stage oocytes : case report. Fertil Steril 65 : 1047-1050
- 9) Noguera D, Staessen C, de Velde H, et al.(2000) Nuclear status and cytogenetics of Embryos derived from *in vitro* matured oocytes. Fertil Steril 74 : 295-298
- 10) Groud PT, Qian C, Laverge H, et al. (1998) *In vitro* maturation of human germinal vesicle stage oocytes : role of cumulus cells and epidermal growth factor in the culture medium. Hum Reprod 13 : 1638-1644
- 11) Hwu Y, Lee RK, Chen C, et al. (1998) Development of hatching blastocysts from immature human oocytes following *in vitro* maturation and fertilization using a co-culture system. Hum Reprod 13 : 1916-1921
- 12) Smith SD, Mikkelsen AL, Lindenberg S (2000) Development of human oocytes matured *in vitro* for 28 or 36 hours. Fertil Steril 73 : 541-544
- 13) Lee DR, Yoon HS, Lee JE, et al.(1997) A new simple assisted hatching technique. Assist Reprod Rev 8 : 188-195

(受付: 2001 年 2 月 13 日)

(受理: 2001 年 4 月 24 日)

**Successful *In Vitro* Maturation (IVM) of Immature Oocytes and Pregnancy :
An Attempt of Frozen-Thawed Embryos Transfer in Hormone
Replacement Cycle for Synchronization**

Setsuyo Chiba, Koichi Kyono, Kosuke Haigo, Tomoko Sato and Noritaka Fukunaga

Department of Gynecology and Urology, Lady's Clinic Kyono, Miyagi 989-6221, Japan

A 34-year-old female and her 34 year-old husband had a five year history of infertility with a diagnosis of PCOS. 12 immature oocytes were retrieved transvaginally and were cultured in TCM-199 medium containing 20% follicular fluid, 10IU/ml FSH, 20IU/ml hCG, 10ng water soluble estradiol at 37°C in an atmosphere of 5% CO₂, 5% O₂, 90% N₂. After 24 hours, six of 12 oocytes had extruded the first polar body. Eighteen hours after microinjection, all six oocytes displayed two pronuclei (2PN) together with two polar bodies. Six zygotes were cryopreserved, because the patient's endometrial thickness was 5.1mm. After 2 months, three thawed and cultured embryos were transferred in hormone replacement cycle. Then the endometrial thickness was 8mm. Thirteen days after ET, rising serum hCG values were detected. A singleton clinical pregnancy was confirmed by detecting gestational sac with yolk sac. Unfortunately, this pregnancy ended in abortion. The result of chorionic examination was 46XX, normal karyotype.

Key words : *in vitro* maturation (IVM), immature oocyte, synchronized endometrium, cryopreservation of 2PN, hormone replacement cycle

(Jpn J Fertil Steril 46 : 163-166, 2001)

ヒト胚盤胞再凍結における Cryoloop を用いた Vitrification の有効性

Effect of Vitrification Using Cryoloop in Human Blastocyst by
Frozen-Thawed Embryo

福永 憲 隆 拝 郷 浩 佑 千 葉 せつよ
Noritaka FUKUNAGA Kosuke HAIGO Sestuyo CHIBA
佐藤 智 子 京 野 廣 一
Tomoko SATO Koichi KYONO

レディースクリニック京野 婦人科・泌尿器科
Department of Gynecology and Urology, Lady's Clinic Kyono,
Miyagi 989-6221 Japan

今日、Assisted Reproductive Technology (ART)において余剰胚が得られた時、凍結保存しその後の周期に融解胚移植を施行することは妊娠率向上のための重要な項目となっている。その凍結方法では Vitrification が脚光を浴びてきた。今回、インフォームドコンセントの得られた初期胚における緩慢凍結後の廃棄受精卵を用い Cryoloop を使った胚盤胞の Vitrification について検討した。凍結胚融解後、分割胚では 72 時間、前核期胚では 96 時間までに桑実胚、胚盤胞に発生したものは前核期胚由来でそれぞれ 30.0%、20.0%、分割胚由来でそれぞれ 0.0%、42.9% であった。これら桑実胚、胚盤胞を Cryoloop を使った Vitrification を施行して融解した結果、24 時間後に Reexpansion したものは前核期胚由来の桑実胚、胚盤胞で 50.0%、75.0%、分割胚由来の胚盤胞で 66.7% であった。Hatching したものは前核期胚由来でそれぞれ 0% と 37.5%、分割胚で 66.7% であった。緩慢凍結-融解後の胚盤胞発生胚を用いた再凍結にもかかわらず Lane M 等の報告¹⁾と同様の成績が得られたことから Cryoloop を用いた Vitrification による再凍結の臨床応用が可能となった。

キーワード：ART, Vitrification, Cryoloop, 胚盤胞, 再凍結

(日不妊誌 46:167-170 2001)

緒 言

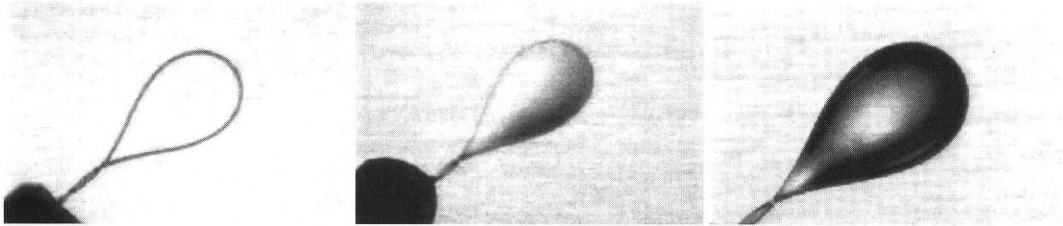
受精卵の凍結保存は体外受精-胚移植を実施する際の必須項目となっている。また今日では胚盤胞までの培養が行われ様々なステージでの凍結が要求されてきた。凍結法においてはプログラムフリーザーを用いる方法が一般的であるが、これらの装置を使わずに短時間で液体窒素へ浸漬する Vitrification が開発され、臨床応用されている。今日の研究では凍結用コンテナをストローではなく Cryoloop を使用することにより極少量の凍結保護液で超急速凍結-融解による高い生

存率¹⁾が得られている。今回我々は、ヒト胚再凍結における Cryoloop を用いた Vitrification の有用性について検討するためにインフォームドコンセントの得られた緩慢凍結廃棄初期胚を用い、胚盤胞まで培養後 Cryoloop を用いた Vitrification にて再凍結を行った。再凍結胚は融解後の生存率、Reexpansion 率、Hatching 率について検討した。

方 法

1. 胚

インフォームドコンセントの得られた凍結余剰初期



1,1 0.5~0.7mm の Cryoloop

1,2 Cryoloop に膜を張った状態

1,3 Cryoloop に胚を載せた状態

図1 Cryoloop (×40-50)

胚は Testart J 等の方法²⁾に従って凍結融解を行った。初期胚の培養には 10% プラスマネートカッター (Plasmanate-Cutter, BAYER) 添加 P-1 Medium (Irvine Scientific, CA), 後期胚の培養には 10% Serum Substitute Supplement (SSS, Irvine Scientific, CA) 添加 Blastocysto Medium (Irvine Scientific, CA) を用いた。培養は 37°C, 6%CO₂, 5%O₂, 89%N₂ の環境下で行った。胚の生存は前核期胚で 24 時間後に分割したものを判断した。融解後分割胚では 72 時間, 前核期胚では 96 時間までに桑実胚もしくは胚盤胞へ発生した胚を用いた。

2. Vitrification

Cryoloop (Hampton Reserch, Laguna Niguel, CA) は Lane M 等の報告¹⁾に基づき, ナイロンループの内径が 0.5~0.7mm の物を使用した (図 1, 1)。Vitrification は 10%SSS 添加 modified HTF (Irvin Scientific, CA) を基礎液とし, 2 step で行った。10% dimethylsulphoxide (DMSO), 10% ethylene glycol 添加基礎液で 2 分間平衡後, ガラス化液 20% DMSO, 20% ethylene glycol, 10mg/ml ficoll (MW400,000), 0.65M sucrose 添加基礎液に 20 秒間保持し, 予めガラス化液で膜を作っておいたループ (図 1, 2) に少量のガラス化液と共に胚を載せ (図 1, 3), 液体窒素中のコンテナーに浸漬して急速に冷却して保存した。液体窒素中には 24 時間保存した。融解は 2 step で行った。コンテナーから取り外した Cryoloop は 0.25M Sucrose 添加基礎液に直接つけて急速融解し 2 分間保持した。その後, 胚は 0.125M Sucrose 添加基礎液に移し 3 分間保持しよく洗浄した後, 基礎液で 5 分間平衡した。凍結融解とも室温 (26°C) で処理をした。

融解した胚は 10% SSS 添加 Blastocyst Medium で 3 回洗浄後, ミネラルオイル (Sigma) 下の 50μl drop に移し培養した。培養は 37°C, 6%CO₂, 5%O₂, 89%N₂

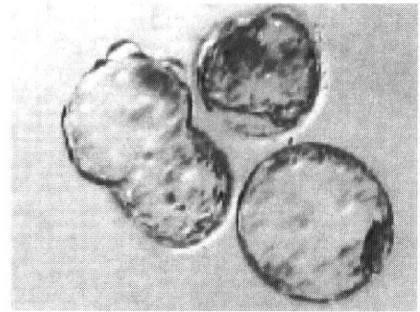


図2 融解 48 時間後の Hatching 写真 (×200)

表1 緩慢凍結・融解後の成績

	前核期胚	分割胚
融解総数	40	7
生存率 (%)	67.5% (27/40)	71.4% (5/7)
桑実胚形成率 (%)	30.0% (12/40)	0.0% (0/7)
胚盤胞到達率 (%)	20.0% (8/40)	42.9% (3/7)

の環境下で行った。胚は融解 24 時間後に観察し Reexpansion しているものを生存胚とした。また, 48 時間後には Hatching を観察した (図 2)。

結 果

1

緩慢凍結・融解後の生存率は前核期胚および分割胚 (2~5 細胞期) で 67.5% (27/40), 71.4% (5/7) であった。そのうち桑実胚, 胚盤胞までの発生率は前核期胚でそれぞれ 30.0% (12/40), 20.0% (8/40) 分割胚でそれぞれ 0.0% (0/7), 42.9% (3/7) であった (表 1)。

2

追加培養の後に桑実胚, 胚盤胞へ発生した胚を Cry-

表 2 Cryoloop Vitirification の成績

	前核期胚		分割胚	
	桑実胚	胚盤胞	桑実胚	胚盤胞
凍結融解数	12	8	0	3
Reexpansion (%)	50.0% (6/12)	75.0% (6/8)	—	66.7% (2/3)
Hatching (%)	0% (0/12) ^a	37.5% (3/8) ^b	—	66.7% (2/3) ^b

同一項目異符号間において有意差あり ($p < 0.01$)

oloop を用いた Vitirification にて凍結した。融解 24 時間後の Reexpansion 率は前核期胚由来の桑実胚、胚盤胞でそれぞれ 50.0% (6/12), 75.0% (6/8) であった。分割胚由来の胚盤胞では 66.7% (2/3) であった。48 時間後の Hatching 率は前核期胚由来の桑実胚、胚盤胞でそれぞれ 0% (0/12), 37.5% (3/8) となった。分割胚由来の胚盤胞では 66.7% (2/3) であった。凍結ステージにおいて Reexpansion 率では差がないものの、Hatching 率では桑実胚に比べ胚盤胞で有為の高い値となった ($p < 0.01$) (表 2)。

考 察

Vitirification を用いたヒト胚凍結-融解後の胚移植による妊娠、分娩は 1990 年に Gordts 等に報告³⁾されて以来、脚光を浴びてきた。日本においても 1996 年に Ohta N 等が⁴⁾、1998 年に Mukaida T 等が 8 細胞期胚の凍結で妊娠、分娩を報告⁵⁾し、2000 年には Yokota Y 等により胚盤胞での凍結で妊娠、分娩が報告⁶⁾された。これらの報告では凍結用コンテナーストローを用いているが、Cryoloop を使用することにより極少量の凍結保護液で超急速凍結による融解後の高い生存率⁷⁾が得られている。

今回我々は余剰凍結初期胚を融解後に桑実胚、胚盤胞になったものを Cryoloop を使用して再凍結した結果、再凍結にもかかわらず Lane M 等の報告¹⁾と同様の Reexpansion 率が得られた。しかし、桑実胚で凍結した胚は後に Hatching はしなかった。これは桑実胚が培養時間における至適発生速度からは遅いことや再凍結による胚への影響などから融解後の発生率に差が現れたと考えられる。

Vitirification とは液体を結晶化せずに固相化することであり⁷⁾、これにより細胞内外の氷晶形成を避けることができ塩濃度の変化や溶質効果も避けることができるとされている。つまり細胞の凍結による障害を最

小限にすることができる。また、高価なプログラムフリーザーを使用することなく簡単に短時間で凍結できることから小規模の施設でも容易に取り入れることができる等の利点がある。Vitirification は胚に限らず他の細胞、組織においても効果を発揮している。一方で高濃度の耐凍剤を使用することによる胚への影響が懸念されているが十分な検討がなされていない。今後さらなる研究が必要と思われる。

文 献

- 1) Lane M, Schoolcraft BW, Gardner KD (1999) Vitirification of mouse and human blastocysts using a novel cryoloop container-less technique. *Fertil Steril* 72: 1073-1078
- 2) Testart J, Lassalle B, Belaisch-Allart J, et al. (1986) High pregnancy rate after early human embryo freezing. *Fertil Steril* 46: 268-272
- 3) Gordts S, Roziere P, Campo R, et al. (1990) Survival and pregnancy outcome after ultrarapid freezing of human embryos. *Fertil Steril* 53: 469-472
- 4) Ohta N, Nohara M, Kojimahara T, et al. (1996) Ultrarapid freezing of human embryos by vitirification method—A case of delivery—. *Jpn J Fertil Steril* 41: 276-279
- 5) Mukaida T, Wada S, Takahashi K, et al. (1998) Vitirification of human embryo based on the assessment of suitable conditions for 8-cell mouse embryos. *Hum Reprod* 13: 2871-2879
- 6) Yokota Y, Sato S, Yokota M, et al. (2000) Successful pregnancy following blastocyst vitirification. *Hum Reprod* 15: 1802-1803
- 7) Fahy GM, Macfarlane DR, Angell CA, et al. (1996) Vitirification as an approach to cryopreservation. *Cryobiology* 21: 407-426

(受付: 2001 年 2 月 13 日)

(受理: 2001 年 5 月 15 日)

Effect of Vitrification Using Cryoloop in Human Blastocyst by Frozen-Thawed Embryo

Noritaka Fukunaga, Kosuke Haigo, Sestuyo Chiba,
Tomoko Sato and Koichi Kyono

Department of Urology and Gynecology Lady's Clinic Kyono,
Miyagi 989-6221, Japan

Cryopreservation of human embryo is commonly used for avoiding multiple pregnancy. Recently, vitrification has been attracted attention in freezing method. The efficacy of vitrification of blastocyst was examined using cryoloop. The development rates of early human embryos after slow freezing were 30.0% of molura, 20.0% of blastocysts from 2 pronuclear stage and 0.0% of molura, 42.9% of blastocysts from 2~5 cell stage. The Reexpansion rates after 24 hours in vitrification using cryoloop were 50.0% of molurae, 75.0% of blastocysts from 2 pronuclear stage and 66.7% of blastocysts from 2~5 cell stage. The Hatching rates after 48 hours were 0.0% from molurae, 37.5% of blastocysts from 2 pronuclear stage and 66.7% of blastocysts from 2~5 cell stage. Cryoloop vitrification was able to cryopreserve human blastocysts by frozen-thawed embryo.

Key words : ART, vitrification, cryoloop, blastocyst, re-frozen

(Jpn J Fertil Steril 46 : 167-170 2001)

ヒト凍結未受精卵子を用い顕微授精により 妊娠・出産に成功した1例

Pregnancy and Delivery of a Healthy Female Infant after Intracytoplasmic Sperm Injection into Cryopreserved Human Oocytes

京野 廣一
Koichi KYONO

福永 憲隆
Noritaka FUKUNAGA

拝郷 浩佑
Kosuke HAIGO

千葉 せつよ
Setsuyo CHIBA

佐藤 智子
Tomoko SATO

レディースクリニック京野 婦人科・泌尿器科

Department of Gynecology and Urology, Lady's Clinic Kyono, Miyagi 989-6221, Japan

ヒト凍結未受精卵子を融解後、顕微授精により日本で初めて妊娠し、健康な女児を出産した1例を報告する。5個の成熟卵の凍結は凍結保護剤として1,2-propanediolとsucroseを使用した緩慢凍結急速融解法により施行した。5個の成熟卵子を融解し、生存していた3個に顕微授精し、2個の前核期胚を得た。翌々日2個の形態良好な8細胞期胚を移植した。妊娠7週に超音波断層法で心臓拍動を、妊娠16週には羊水検査を行い、46,XX、正常核型を確認した。2001年4月、3,100グラムの女児を出産した。

キーワード：ヒト凍結未受精卵子、緩慢凍結急速融解法、顕微授精、妊娠・出産、プロパングダイオール
(日不妊会誌 46:171-177 2001)

緒言

早発卵巣不全が予想される症例や悪性腫瘍のために手術、化学療法、放射線療法を必要とする場合にあらかじめ、卵子を凍結保存することは、将来、患者が自身の子供を持てる希望が残され、患者にとっては大きな福音である。また、将来もし卵子提供が認められた場合に、多数の卵子が採取できた時、その未受精卵を凍結保存しておけば、数人に分配でき、また選択の時間的余裕も与えられより有効と考えられる。日本で初めて凍結融解したヒト未受精卵子に顕微授精し、妊娠、出産に成功した1症例を報告する。

症例報告

症例は30歳女性、不妊原因：両側卵管閉塞、子宮内膜症、クラミジア感染症。不妊期間4年、XXXXXXXXXX9

月子宮卵管造影にて両側卵管閉塞と診断。XXXXXXXXXX3月腹腔鏡検査で、子宮内膜症と診断。癒着も高度で両側の卵管采が完全に埋没しているため体外受精の予定となる。XXXXXXXXXX7月、月経3日目より経口避妊薬(エチニルエストラジオール・ノルゲストレル、日本シェーリング)を20日間内服する。内服14日目よりGonadotropin Releasing Hormone (GnRH) agonist(スプレキュア、アベンテイス)を1日900 μ g点鼻より開始し、消退出血2日目より1日600 μ gと減量し、human Chorionic Gonadotropin (hCG)(プロファシー、セロノ)当日まで使用した(long protocol)。3日目よりhuman Menopausal Gonadotropin (hMG)(ヒュメゴン、オルガノン)を投与し(総投与量2,400IU)、11日目に血中E₂が2,172pg/mlの時点でhCG 10,000IUを注射、36時間後に9個採卵した。その後、夫は院内の採精室で精液採取を試みたが採取できず、相談の結

果、卵子を一旦凍結保存し、2~3カ月あとに治療する予定で帰宅した。MetaphaseII(MII)期卵は5個であった。その後、図1のように1, 2propanediol(PROH), sucrose を用いた緩慢凍結法にて凍結保存した。採卵して7時間後(凍結開始3時間後)に、帰宅後、妻の介助で精液が採取できたとの連絡がはいり、精子を確認後直ちに卵子を急速融解し、顕微授精に供した(採卵後、約10時間目)。

方 法

1) 凍結

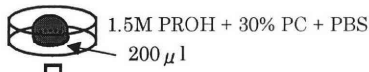
未受精卵子は1.5M 1,2propanediol (以下 PROH,

Sigma) + 30% plasmanate-cutter (以下 PC, BAYER) 添加 Dulbecco's phosphate-buffer solution (以下 PBS, Gibco, Life Technologies Ltd) の200 μ l ドロップ中で10分間平衡した。次いで1.5M PROH + 0.2M sucrose (Sigma) + 30% PC 添加 PBS 中に移し、2分以内にストローへ充填した。各操作はすべて室温でおこなった。プログラミングフリーザー (ET-1, Fujihira Industry Co. LTD) には23 $^{\circ}$ C でストローを充填し、-7 $^{\circ}$ C まで-2 $^{\circ}$ C/分で冷却した。-7 $^{\circ}$ C に達した1分後に植氷を行い10分間保持した後-30 $^{\circ}$ C まで-0.3 $^{\circ}$ C/分で冷却し10分間保持し、液体窒素タンクへ保存した。

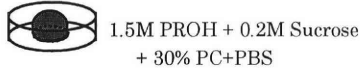
2) 融解

凍結手順

*凍結はすべて室温で行う (22 ~ 25 $^{\circ}$ C)

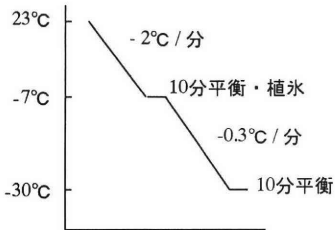


↓ 10分



↓ 2分以内にストローに充填し
プログラムフリーザーに入れる

液体窒素ボンベに入れる



プログラムフリーザー設定

融解手順

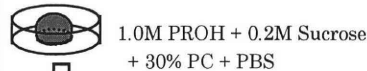
空中保持 (22 ~ 25 $^{\circ}$ C)

↓ 30秒

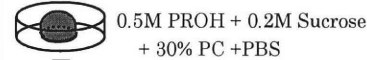
温水に入れる (30 $^{\circ}$ C)

↓ 45秒

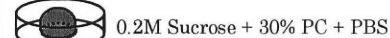
*以降の手順はすべて室温で行う (22 ~ 25 $^{\circ}$ C)



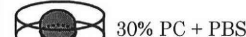
↓ 5分



↓ 5分



↓ 10分



↓ 10分



*PBS: Phosphate Buffered Saline, PC: Plasmanate-cutter,

HTF: Human Tubal Fluid

図1 ヒト卵子の凍結融解方法

液体窒素タンクより取り出したストローは室温で 30 秒, 30°C の温水中で 45 秒保持し急速に融解した。1.0M PROH + 0.2M sucrose + 30%PC 添加 PBS 中で 5 分間, 0.5M PROH + 0.2M sucrose + 30%PC 添加 PBS 中で 5 分間, 0.2M sucrose + 30%PC 添加 PBS 中で 10 分間, 30%PC 添加 PBS 中で 10 分間後, 37°C, 5% CO₂, 5% O₂, 90% N₂F, 10%PC 添加 HTF 中で培養した。

結 果

MII 卵 5 個を凍結融解した結果, 3 個が生存(生存率 60%)していた。その 3 個に顕微授精し, 翌日, 3 個の内 2 個が受精し(受精率 66.7%), 採卵 3 日後に 8 細胞期胚 2 個を子宮内に移植した。黄体補充として採卵 2 日目より黄体ホルモン 50mg を 14 日間連日投与した。採卵後 17 日目に妊娠反応陽性, 42 日目に頭臀長 14 mm, 胎児心拍を確認した。妊娠 16 週に羊水検査を行い, 46, XX, 正常核型であることを確認した。

2001 年 4 月, 妊娠 39 週で 3,100g の健康な女児を出産した。

考 察

未受精卵子の特性として, 胚や他の体細胞に比べて細胞体積が極度に大きいばかりでなく, 球形であるため, 単位体積あたりの表面積が最小となり, 浸透圧変化による物理的影響を最も受けやすい。また受精前の卵子は受精卵と比べて原形質膜透過性が低いため, 脱水および復水による細胞内の障害が発生しやすい。さらに不妊治療の分野において凍結の対象となる成熟卵子では核が分裂中期にあるため, 細胞構造的に微小管などが物理的な損傷を受けやすいとされている。

哺乳動物の卵子凍結による出産は 1977 年 Whittingham D により初めてマウスで報告された¹⁾。ヒト凍結未受精卵子による妊娠出産は 1986 年 Chen C.²⁾により初めて, 次いで 1987 年 Van Uem et al.³⁾により報告され, これまで 28 例が出産している (Paynter SJ, 2000)⁴⁾。

ヒトでの初めての成功はマウスで使われた方法に準じた 1.5M dimethylsulphoxide (以下 DMSO) を用いた緩慢凍結急速融解法であった。50 個の卵子のうち, 凍結融解後 38 個が生存(生存率 76% 率), 75% が受精, 60% が 6~8 細胞期まで発育した。7 名に胚移植し, 2 名(妊娠率 28.6%) が妊娠出産した。Van Uem et al. もほぼ同様の方法で 28 個を凍結融解して 7 個が生存(生存

率 25.0%), 2 個受精(受精率 28.6%) 2 個の胚(分割率 100%) を移植して妊娠に成功している。1987 年 Die-drich et al.⁵⁾ は 283 個の卵子を同様な方法で凍結融解し, 27.4% の生存率, 58% の受精率, 2 例妊娠(妊娠率不明) したが, 2 例とも流産に終わっている。また Al Hasani et al.(1987 年)⁶⁾ 3 種類の方法を比較検討している。方法 1 は 1.5M DMSO を用いた緩慢凍結法, 方法 2 は 1.5M PROH + sucrose を用いた緩慢凍結法, 方法 3 は 3M DMSO + sucrose を用いた急速凍結法で, 全部で 329 個の卵子を凍結した。方法 1 で 144 個を融解, 40 個生存(生存率 27.8%), 20 個受精(受精率 50.0%), 方法 2 では 38 個融解, 12 個生存 (生存率 31.6%), 9 個受精(受精率 75.0%), 方法 3 では 23 個融解, 1 個生存(生存率 4.3%), 受精 0 であった。なお方法 1 で 20% の多倍体に対し, 方法 2 では 44% と高率であったと報告されている。この段階で Chen の報告以外は生存率 (40% 以下), 受精率 (75% 以下), 分割率, 妊娠率 (Chen 以外記載無く低率) の低い事, 凍結保護剤の選択, 使用方法, 凍結融解方法, 透明帯, 表層顆粒, 細胞骨格 (染色体, 紡錘体) 損傷の問題が多いことより広く世界に普及せず, Chen, Van Uem et al. に続く出産は 1997 年まで報告がなかった。

A 細胞骨格異常:

マウス卵は低温にさらされると染色体の倍数性異常をきたす。しかし, その後 37°C で十分な時間, 保温すると回復すると言われている^{7,8)}。しかし, ヒトでは 10~30 分室温に置くと, 不可逆性の紡錘体の分裂, 染色体の分散を起こすと報告されている^{9,10)}。

平衡時間については凍結保護剤に 10 分以上浸すと受精率が低下するとか¹¹⁾, 10 分の平衡時間がヒト未受精卵子の生存率を改善する¹²⁾との報告があり, 10 分が最適のようである。

凍結保護剤として DMSO は紡錘体の分裂をおこすと言われている¹³⁾。しかし, 37°C で DMSO に暴露した場合, 受精率が 10% であったのに対し, 4°C の場合は, 受精率 75% と改善がみられた。これは微小管に対し, DMSO が重合を, 低温が脱重合をおこし, 両者を併用する事で, 未受精卵に対し, 保護的に作用したとみられる¹⁴⁾。PROH に関しては Gook et al. が 1993 年にヒト未受精卵子で検討し, 融解後 64% が生存, その内 60% が紡錘体と染色体は正常であったと報告している¹⁵⁾。また 1994 年ヒト凍結未受精卵子の受精率は 46% と新鮮な未受精卵 59% に対し, 低率であったが, 正常に受精した凍結未受精卵子は正常な核型で染色体

配列異常のないことを報告した¹⁵⁾。ヒト未成熟卵子を用いてDMSOとPROHを比較した報告^{6,16)}では、PROH群の方が生存率も、多倍体率も高かった。

B 表層顆粒の早期放出；透明帯硬化

Jonson (1989)¹⁷⁾, Schalkoff et al. (1989)¹⁸⁾, Vincent et al. (1990)¹⁹⁾は未受精卵子の凍結が表層顆粒の早期放出、透明帯の硬化を引き起こし、結局は受精率の低下をまねくことを報告している。AlHasani and Dietrich (1995)¹²⁾はヒトとウサギで融解した未受精卵子の表層顆粒の減少を指摘している。Gook et al. (1993)¹⁴⁾はPROHで凍結融解後に逆に表層顆粒が減少していないと報告している。Al Hasani et al. (1987)⁶⁾凍結融解した未受精卵子に体外受精すると多精子受精により多倍体や極体放出阻害による3倍体形成が多くみられると報告している。このような凍結融解による透明帯の問題に対し、ICSIが効果を発揮した。Kazem et al. (1995)²⁰⁾は220個のヒト未受精卵子をPROHを用いて凍結融解後、生存した74個(生存率34.4%)を体外受精群とICSI群に分けて検討した。受精率は各々13.5% vs 45.9%, 分割率は各々0% vs 43.2%と報告し、ICSIの有効性を報告した。Gook et al.²¹⁾も1995年にはヒト凍結未受精卵子を用いて体外受精群とICSI群とを比較し、各々、受精率、分割率(3日目)、胚盤胞到達率(7日目)は55% vs 71%, 33% vs 100%, 11% vs 29%と、ICSI群で良好と報告した。

このような研究の結果、現在、緩慢凍結急速融解法で未受精卵子を凍結する時は、図1に示した方法が最良と考えられる。この方法により、Porcu E.は1997年には10年ぶりに妊娠出産例を²²⁾、1999年には1769個の未受精卵子を凍結、1,502個を融解し、生存率54%、受精率57%、分割率91%と良好な結果で16例の妊娠、11例の出産²³⁾を報告している。さらに2000年のアメリカ生殖学会では凍結卵子を用いて誕生した13名(男4,女9)をfollow upし、奇形が全く無いこと、身体的、知的発育も正常であることを報告している²⁴⁾。妊娠率についてFabbri(1998)²⁵⁾は38例中、妊娠6例(妊娠率15.8%)、出産4例を報告している。その後、この方法による出産の報告が続いている²⁶⁻³⁰⁾。

今後の改善すべき項目として凍結保護剤のsucroseを0.2Mから0.3Mにする³¹⁾、PROHで平衡する場合、室温10分ではなく、37°C5分とする³²⁾、植水を-7°Cではなく、-4.5°Cで行う³³⁾、ナトリウムをコリンに置換する³⁴⁾ことなどが指摘されている。また、ヒトとマウスでは未受精卵子の浸透性^{35,36)}、PROH、DMSOなど、

凍結保護剤の紡錘体、染色体への損傷の発生率が異なる¹³⁾など種の違いを念頭に研究をすすめていくことが必要である。

C Vitrification (ガラス化法)

最近 vitrification の報告が散見されるようになってきた。この方法は細胞への冷温障害を回避でき、保存溶液内に有害な氷晶が発生しないため、凍結保存後の高い生存率が期待される。またプログラムフリーザーを必要とせず、処理が極めて簡便で、確立されれば、主流となろう。Rall and Fahy (1985)³⁷⁾の報告以来、種々の哺乳動物でガラス化保存が応用され³⁸⁻⁴⁰⁾、Cha et al. (1999)⁴¹⁾ Kuleshova et al. (1999)⁴²⁾、Yoon et al. (2000)⁴³⁾により、妊娠出産も報告されるようになってきた。桑山ら (2000)⁴⁴⁾は低濃度のガラス化液を用いて超急速に冷却、融解する最少容量冷却法を報告しており、さらに融解後の高い生存率、妊娠率、出産率が期待される。

D 未成熟卵子の凍結

未成熟卵子の特徴として

- 1 卵丘細胞と卵母細胞との連結部付近にかかる機械的ストレスが大きい。
- 2 紡錘体(微小管系)脱重合による染色体分散や倍数性異常は少ない。
- 3 精子侵入前に起こる表層顆粒の放出と透明帯の硬化は起き難い。

未成熟卵子の凍結は成熟卵子にもまして困難で妊娠例もCha et al. (1991)⁴⁵⁾、Trounson et al. (1994)⁴⁶⁾、Tucker et al. (1998)⁴⁷⁾のみである。今後、前述のガラス化法が期待される。

E 卵巣組織の凍結

卵巣刺激によって多数の未受精卵子が得られるが、1回の採卵で、凍結融解後に胚移植できるのはせいぜい1~2回である。

若い女性の卵巣皮質切片には数百の原始卵胞があるとされ(Knobil and Neill, 1994)⁴⁸⁾、かなり多数の未成熟卵子を供給可能である。マウスではEppig and O'Brien(1996)⁴⁹⁾が原始卵胞から体外成熟し、体外受精、胚移植より出産に成功している。

卵巣組織の凍結も多方面から研究され⁵⁰⁻⁵⁴⁾、Oktay K.⁵⁵⁾は卵巣組織を前腕に埋め込み、そこから採卵する報告をしている。今後は、より生存率、受精率、妊娠率の高い凍結融解技術が望まれる。今回は日本で初めて、凍結保護剤としてプロパンダイオールを用いて緩慢凍結急速融解したヒト未受精卵子にICSIすること

より妊娠出産に成功した 1 症例を報告した。

文 献

- 1) Whittingham D (1977) Fertilization *in vitro* and development to term of unfertilized mouse oocytes previously stored at -196°C . J Reprod Fertil 49: 89-94
- 2) Chen C (1986) Pregnancy after human oocyte cryopreservation. Lancet i: 884-886
- 3) Van Uem JFHM, Siebzehrubl ER, Schuh B, et al. (1987) Birth after cryopreservation of unfertilized oocytes. Lancet ii: 752-753
- 4) Paynter SJ (2000) Current status of the cryopreservation of human unfertilized oocytes. Hum Reprod Update 6: 449-456
- 5) Diedrich K, Al Hasani S, van der Ven H, et al. (1987) Successful *in vitro* fertilization of frozen-thawed rabbit and human oocytes. In proceeding of the 5th World Congress on IVF and ET, pp562-570
- 6) Al Hasani S, Dietrich K, van der Ven, et al. (1987) Cryopreservation of human oocytes. Hum Reprod 2: 695-700
- 7) Pickering SJ, Johnson MH (1987) The influence of cooling on the organization of the meiotic spindle of the mouse oocyte. Hum Reprod 2: 207-216
- 8) Sathananthan AH, Kirby C, Trounson A, et al. (1992) The effects of cooling mouse oocytes. J Assist Reprod Genet 9: 139-148
- 9) Pickering SJ, Braude PR, Johnson MH, et al. (1990) Transient cooling to room temperature can cause irreversible disruption of the meiotic spindle of the human oocyte. Fertil Steril 54: 102-108
- 10) Almedia PA, Bolton VN (1995) The effect of temperature fluctuations on the cytoskeletal organization and chromosome constitution of the human oocyte. Zygote 3: 357-365
- 11) Pickering SJ, Braude PR, Johnson MH (1991) Cryopreservation of human oocytes: inappropriate exposure to DMSO reduces fertilization rates. Hum Reprod 6: 142-143
- 12) Al Hasani S, Diedrich K (1995) Oocyte storage. In: Grudzinskaskas JG, Yovich JL (eds.), Gamete-The Oocyte. Cambridge University Press, Cambridge.
- 13) Johnson MH, Pickering SJ (1987) The effect of dimethylsulphoxide on the microtubular system of the mouse oocyte. Development 100: 313-324
- 14) Gook DA, Osborn S, Johnston W (1993) Cryopreservation of mouse and human oocytes using 1, 2-propanediol and the configuration of the meiotic spindle. Hum Reprod 8: 1101-1109
- 15) Gook DA, Osborn SM, Bourne H, et al. (1994) Fertilization of human oocytes following cryopreservation; normal karyotypes and absence of stray chromosomes. Hum Reprod 9: 684-691
- 16) Todorow S, Seibzehnbl K, Koch R, et al. (1989) Comparative results on survival of human and animal eggs using different cryoprotectants and freeze-thawing regimens II Human. Hum Reprod 4: 812-816
- 17) Johnson MH (1989) The effect on fertilization of exposure of mouse oocytes to dimethylsulfoxide: an optimal protocol. J In Vitro Fertil Embryo Transfer 6: 168-175
- 18) Schalkoff ME, Oskowitz SP, Powers RD (1989) Ultrastructural observations of human and mouse oocytes treated with cryopreservatives. Biol Reprod 40: 379-393
- 19) Vincent C, Pickering SJ, Johnson MH (1990) The zona hardening effect of dimethylsulfoxide requires the presence of an oocyte and is associated with reduction in the number of cortical granules present. J Reprod Fertil 89: 253-259
- 20) Kazem R, Thompson LA, Srikantharajah A, et al. (1995) Cryopreservation of human oocytes and fertilization by two techniques: *in-vitro* fertilization and intracytoplasmic sperm injection. Hum Reprod 10: 2650-2654
- 21) Gook DA, Schiewe MC, Osborn SM, et al. (1995) Intracytoplasmic sperm injection and embryo development of human oocytes cryopreserved. Using 1,2-propanediol. Hum Reprod 10: 2637-2641
- 22) Porcu E, Ciotti P, Fabbri R, et al. (1997) Birth of a healthy female after intracytoplasmic sperm injection of cryopreserved human oocytes. Fertil Steril 68: 724-726
- 23) Porcu E, Fabbri R, Ciotti P, et al. (1999) Cycles of human oocyte cryopreservation and intracytoplasmic sperm injection: results of 112 cycles. Fertil Steril 72 (Suppl. 1) S2
- 24) Porcu E, Fabbri R, Seracchioli R, et al. (2000) Obstetric, Perinatal Outcome and Follow Up of Children Conceived from Cryopreserved Oocytes. Fertil Steril 74 (Suppl 1.) S48
- 25) Fabbri R, Porcu E, Marsella T, et al. (1998) Oocyte cryopreservation. Hum Reprod 13: 98-108
- 26) Polak de Fried E, Notrica J, Rubinstein M, et al. (1998) Pregnancy after human donor oocyte cryopreservation and thawing in association with intracytoplasmic sperm injection in a patient with

- ovarian failure. *Fertil Steril* 69 : 555-557
- 27) Young E, Kenny A, Puigdomenech E, et al. (1998) Triplet pregnancy after intracytoplasmic sperm injection of cryopreserved oocytes : case report. *Fertil Steril* 70 : 360-361
 - 28) Tucker MJ, Wright G, Morton PC, et al. (1998) Birth after cryopreservation of immature oocytes with subsequent *in vitro* maturation. *Fertil Steril* 70 : 578-579
 - 29) Yang DS, Blohm PL, Winslow KL (1998) A twin pregnancy after microinjection of human cryopreserved regime. *Fertil Steril* 70 (suppl.) S239
 - 30) Vidali A, Dani G, Antorini M, et al. (1998) Oocyte cryopreservation is viable alternative option for patients who refuse embryo freezing. *Fertil Steril* 70 (Suppl. 1) S138
 - 31) Fabbri R, Porcu E, Marsella T, et al. (2001) Human oocyte cryopreservation : new perspective regarding oocyte survival. *Hum Reprod* 16 : 411-416
 - 32) Yang DS, Blohm PL, Cramer L, et al. (1999) A successful human oocyte cryopreservation regime : survival, implantation and pregnancy rates are comparable to that of cryopreserved embryos generated from sibling oocytes. *Fertil Steril* 72 (suppl.) S86
 - 33) Trad FS, Toner M, Biggers JD (1998) Effect of cryoprotectants and ice-seeding temperature on intracellular freezing and survival of human oocytes. *Hum Reprod* 14 : 1569-1577
 - 34) Stachecki JJ, Cohen J, Willadsen SM (1988) Cryopreservation of unfertilized mouse oocytes : the effect of replacing sodium with choline in the freezing medium. *Cryobiology* 37 : 346-354
 - 35) Paynter SJ, Cooper A, Fuller BJ, et al. (1999) Permeability characteristics of human oocytes in the presence of the cryoprotectant dimethylsulphoxide. *Hum Reprod* 14 : 2338-2342
 - 36) Paynter SJ, O'Neil L, Fuller BJ (2001) Membrane permeability of human oocytes in the presence of the cryoprotectant propane-1, 2-diol. *Fertil Steril* 75 : 532-538
 - 37) Rall WF, Fathy GM (1985) Ice-free cryopreservation of mouse embryos by vitrification. *Nature* 313 : 573-575
 - 38) Kasai M, Komi JH, Takakamo A, et al. (1990) A simple method for mouse embryo cryopreservation in a low toxicity vitrification solution, without appreciable loss of viability. *J Reprod Fertil* 89 : 91-97
 - 39) Kuwayama M, Hamano S, Nagai T (1992) Vitrification of bovine blastocysts obtained by *in vitro* culture of oocytes matured and fertilized *in vitro*. *J Reprod Fertil* 96 : 187-193
 - 40) Vajita G, Kuwayama M, Holm P, et al. (1998) Open pulled straw Vitrification : a new way to reduce cryoinjuries of bovine ova and embryos. *Mol Reprod Dev* 51 : 38-58
 - 41) Cha KY, Hong SW, Chung HM, et al. (1999) Pregnancy and implantation from vitrified oocytes following *in vitro* fertilization (IVF) and *in vitro* culture (IVC). *Fertil Steril* 72 (Suppl 1) S2
 - 42) Kuleshova L, Gianaroli L, Magli C, et al. (1999) Birth following vitrification of a small number of human oocytes. *Hum Reprod* 14 : 3077-3079
 - 43) Yoon TK, Chung HM, Lim JM, et al. (2000) Pregnancy and delivery of healthy infants developed from vitrified oocytes in a stimulated *in vitro* fertilization-embryo transfer program. *Fertil Steril* 74 : 180-181
 - 44) 桑山正成, 加藤 修 (2000) ヒト卵子および胚のガラス化保存. *日不妊会誌* 45 : 191
 - 45) Cha KY, Koo JJ, Choi DH, et al. (1991) Pregnancy after *in vitro* fertilization of human follicular oocytes collected from nonstimulated cycles, their culture *in vitro* and their transfer in a donor oocyte program. *Fertil Steril* 55 : 109-113
 - 46) Trounson AO, Pushett D, MacLellan LJ, et al. (1994) Current status of IVM/IVF and embryo culture in humans and farm animals. *Theriogenology* 41 : 57-66
 - 47) Tucker M, Wright G, Morton PC, et al. (1998a) Birth after cryopreservation of immature oocytes with subsequent *in vitro* maturation. *Fertil Steril* 70 578-579
 - 48) Knobil E, Neill JD (1994) *The Physiology of Reproduction*. 2nd ed, Raven Press, New York.
 - 49) Eppig JJ, O'Brien MJ (1996) Development *in vitro* of mouse oocytes from primordial follicles. *Biol Reprod* 54 : 197-207
 - 50) Gosden RG, Baird DT, Wade JC, et al. (1994) Restoration of fertility to oophorectomized sheep by ovarian autografts stored at -196°C. *Hum Reprod* 9 : 597-603
 - 51) Shaw JM, Bowles J, Koopman P, et al. (1996) Fresh and cryopreserved ovarian tissue samples from donors with lymphoma transmit the cancer to graft recipients. *Hum Reprod* 11 : 1668-1673
 - 52) Oktay K, Karlikaya G, Gosden, et al. (1999) Ovarian function after autologous transplantation of frozen-banked human ovarian tissue. *Fertil Steril* 72 (Suppl. 1) S21
 - 53) Newton H, Fisher J, Arnold JRP, et al. (1998) Per-

- meation of human ovarian tissue with cryoprotective agents in preparation for cryopreservation. Hum Reprod 13: 376-380
- 54) Hovatta O (2000) Cryopreservation and culture of human primordial and primary ovarian follicles. Mol Cell Endocrinol 27: 169 (1-2) 95-97
- 55) Oktay K, Aydin BA, Economos K, et al. (2000) Restoration of ovarian function after autologous transplantation of human ovarian tissue in the forearm. Fertil Steril 74 (Suppl. 1) S90
(受付: 2001 年 2 月 13 日)
(受理: 2001 年 5 月 21 日)

Pregnancy and Delivery of a Healthy Female Infant after Intracytoplasmic Sperm Injection into Cryopreserved Human Oocytes

Koichi Kyono, Noritaka Fukunaga, Kosuke Haigo, Setsuyo Chiba and Tomoko Sato

Department of Gynecology and Urology, Lady's Clinic Kyono,
3-8-6 Omiya, Furukawa-city, Miyagi 989-6221, Japan

We report the first pregnancy and delivery of a healthy female infant after intracytoplasmic sperm injection of cryopreserved human oocytes in Japan.

A total of 5 mature oocytes was cryopreserved using a slow freeze-rapid thaw protocol with 1,2propanediol and sucrose as cryoprotectant.

3 of 5 metaphase II oocytes survived. 3 mature oocytes were injected and of these, 2 fertilized and cleaved. 2 good -quality 8 cell embryos were transferred. At 7 weeks gestation, we confirmed the fetus with heart movement. Amniocentesis was performed at 16 weeks gestation and demonstrated a normal female karyotype of 46XX. After a normal pregnancy, a 3100g healthy female infant was born at 39th week of gestation.

Key words : human cryopreserved oocyte, slow freeze-rapid thaw protocol, intracytoplasmic sperm injection (ICSI), pregnancy and delivery, 1, 2 propanediol

(Jpn J Fertil Steril 46: 171-177 2001)

地方部会講演抄録

第37回 日本不妊学会北陸支部学術総会

日時：平成12年6月3日(土) 13:30～

場所：KKR金沢ホテル(金沢市)

1. 当院における胚盤胞移植の現況について

○山崎裕行, 前多亜紀子, 佐藤真由美
鶴崎明子, 道倉康仁

(永遠幸マタニティクリニック)

【目的】ARTの反復不成功症例において、受精卵を胚盤胞まで培養し、胚盤胞移植を試みた。胚盤胞までの発生率と妊娠について検討した。【対象と方法】当院あるいは他院でIVF-ETを3回以上反復して不成功であった症例、あるいは当院で2回以上不成功で患者の希望した症例について、平成11年7月より平成12年4月までの10カ月間に胚盤胞移植を行ったものを対象とした。胚の培養には前期培養はP1 medium, 後期培養はblastocyst mediumあるいはG2-2 mediumを用いた。【結果】胚盤胞移植を予定した132周期において、実際に胚盤胞移植出来たのは82周期(62.1%)であった。分割胚から胚盤胞までの発生率は、新鮮胚では35.8%(182/509)、凍結融解胚では33.0%(32/97)となり、40歳以上では胚盤胞発生率が低く移植キャンセル率は69.2%となった。82周期中で妊娠は17例(20.7%)に認められ、そのうち12例は5回以上の反復症例であり、3例は10回以上の反復例だった。しかし、20歳代での妊娠は12例中2例(16.7%)、40歳代は8例中1例(12.5%)と妊娠率の明らかな上昇は認められなかった。【結論】ART反復不成功例において、現在のところ胚盤胞移植での妊娠率の上昇はみられず、症例の選択、培養法や移植前後の子宮内膜環境等の改善は必要であるが、胚盤胞移植は妊娠率の向上に有効な方法の一つであると考えられる。

2. 当院不妊外来における治療成績

○鈴木康夫, 鈴木雅夫

(鈴木レディスホスピタル)

平成10年～11年度(平成10年4月～平成12年3月)に当院不妊外来を訪れた276例について検討した。1)不妊の原因で明らかな因子としては排卵・内分泌因子が93例(33.7%)で最多、次に男性因子が44例(15.9%)であった。2)全体の妊娠は152例(55.1%)、そのうちの妊娠継続・出産は128例(84.2%)であった。3)世代別に妊娠した例を検討すると初診時年齢が24歳以下では7例中6例(90.9%)、25歳から29歳が119例中66例(55.5%)、30歳から34歳が114例中65例(52.6%)、35歳から39歳が26例中11例(42.3%)、40歳以上が6例中0例(0%)で初診時の年齢が上昇するに連れて妊娠率が低下を示した。4)AIHは76症例、397周期に実施し、23周期、23例が妊娠。症例あたり妊娠率は30.3%、周期あたり妊娠率は5.8%であった。5)IVFは31症例、61周期に施行し45例移植(移植回数/採卵総回数は73.8%)。妊娠例は9症例10周期で、採卵当たりの妊娠率は16.3%、移植当たりの妊娠率は22.2%、症例当たりの妊娠率は32.2%であった。

3. ヘパリン&低用量アスピリン療法が有用であった習慣流産の1例

○折坂 誠, 澤村陽子, 服部克成

福田 真, 西川有紀子, 山本早苗

河原和美, 佐々木博正, 吉田好雄

経沢 弥, 細川久美子, 後藤健次

小辻文和

(福井医大産婦)

習慣流産はいまだ不明な点の多い病態であり、治療方針も定まっていないが、近年ヘパリン療法の有用性が報告されており、スタンダードな治療法になりつつある。我々は、ヘパリン&低用量アスピリン療法が有用であった習慣流産の1例を経験したので、若干の文献的考察を加えて報告する。症例は30歳、5回経妊0回経産。26歳より低用量アスピリン療法やプレドニゾロン内服療法、夫リンパ球免疫療法などを試みるも、5回の自然流産を繰り返す。抗核抗体320倍と陽性。夫婦染色体検査、子宮鏡検査、内分泌検査、抗リン脂質抗体(lupus anticoagulant, 抗カルジオリピン-β₂ GPI複合体抗体)検査などはいずれも異常を認めず。遮断抗体活性は陽性。今回自然周期にて妊娠成立、治療を開始した。妊娠4週より低用量アスピリン療法(81mg/day)、プレドニゾロン内服療法(15mg/day)開始。妊娠5週より入院の上、ヘパリン療法(10,000単位/day DIV)を併用す。妊娠9週にプレドニゾロンを柴苓湯に変更。妊娠15週に歯肉出血出現したため低分子ヘパリンに変更し、以後出血傾向消失。抗核抗体は160

倍(妊娠 9 週)→80 倍(妊娠 23 週)→40 倍(妊娠 31 週)と漸減。妊娠 32 週にヘパリン療法中止し、妊娠 34 週以降は外来管理とす。妊娠 36 週に低用量アスピリン療法中止、柴苓湯は分娩直前まで内服していた。平成 12 年 4 月 12 日、妊娠 40 週 5 日、微弱陣痛(分娩停止)、胎児仮死の診断にて緊急帝王切開術施行。3,190g の男児、ApS 9/10 を娩出す。母児ともに特記すべき異常なく退院となる。最近ヘパリン療法は、抗凝固作用だけでなく免疫学的作用機序の可能性も示唆されている。ヘパリンに関する最近の知見もあわせて報告する。

4. 当科における細径腹腔鏡 (Minisite™) 使用の経験—診断的腹腔鏡における細径腹腔鏡と従来式腹腔鏡の比較検討—

○道又敏彦, 宮崎聡美, 津田 博
齋藤 滋 (富山医薬大産婦)

【目的】細径腹腔鏡の開発により、従来 10mm 径の腹腔鏡の一部が 2~3mm 径の細径腹腔鏡を用いて施行されている。今回、診断的腹腔鏡における細径腹腔鏡と従来式腹腔鏡の比較検討を行ない、細径腹腔鏡の手術侵襲低減の有効性について検討した。【対象】1998 年 4 月より 2000 年 3 月までに、診断的腹腔鏡を施行した 45 症例。【方法】入院後、全身麻酔下に手術を行った。細径腹腔鏡は、オートスーチャー社製の Minisite™ を用い、径 2mm の専用トラカールを臍上部横切開より direct 法にて穿刺し、気腹後、下腹部に操作鉗子用の 2mm 径のトラカールを 2 本配置し、手術を行った。従来式腹腔鏡は、臍部正中縦切開を加え開腹し、open 法にて、11mm トラカールを装着し、気腹後、下腹部に操作鉗子用の 5mm 径のトラカールを 1~2 本配置し、手術を行った。それぞれにつき、手術時間、術後鎮痛剤の使用量、術後入院期間につき検討した。【結果】従来式腹腔鏡を用いた手術時間は 74.1 ± 29 分で、細径腹腔鏡では 83.5 ± 34 分で有意差はなかった。術後鎮痛剤の使用量として従来式腹腔鏡では、ペンタゾシン 15mg を 0.84 ± 0.9 回、ボルタレン Sp 50mg を 0.63 ± 0.6 回必要としたのに対して、細径腹腔鏡では、ペンタゾシン 15mg を 0.38 ± 0.5 回、ボルタレン Sp 50mg を 0.23 ± 0.4 回必要としたのみで、細径腹腔鏡下手術で有意に術後鎮痛剤の使用量が少なかった。また、術後の入院期間は従来式腹腔鏡では、 6.0 ± 1.3 日であったのに対して、細径腹腔鏡では、 3.5 ± 1.3 日と有意に短かった。【結論】細径腹腔鏡は、術後の疼痛の軽減のみならず、入院期間の短縮にもつながり、手術侵襲の低減に

役立ち有用であると考えられた。

5. プロラクチノーマによる性腺機能低下症の治療成績

○太田昌一郎, 野崎哲夫, 岩崎雅志
布施秀樹 (富山医薬大泌尿器)

原疾患の治療およびゴナドトロピン補充療法により、良好な治療効果を得たプロラクチノーマによる性腺機能低下症の 4 例を経験した。主訴は性欲の低下が 2 例で、他は勃起障害と不妊が 1 例ずつであった。恥毛は男性型、精巢容積は標準を示した。精液所見は射出不能で検査できなかった例から、勃起障害例ではほぼ正常な精液所見を示すなどまちまちであった。内分泌学的には、プロラクチンの正常上限よりも 3 倍から 200 倍以上を示す高値とゴナドトロピンおよびテストステロンの低値をみとめた。LH-RH テストの反応は不良であったが、hCG テストでは 1 例を除いて hCG 刺激後テストステロン値が正常を示した。治療は、いずれも原疾患に対して摘除術およびプロモクリプチン療法を施行後、ゴナドトロピンが低値でしかも挙児希望の 2 例についてゴナドトロピン補充療法を施行した。1 例は治療前射出精液が数滴であったが下垂体手術後ゴナドトロピン補充療法 (hCG 2,000IU + hMG 150IU 週 2 回) およびプロモクリプチン内服を 30 カ月継続したところ、精液量 1.9ml、精子濃度 $203 \times 10^6/\text{ml}$ 、運動率 56% と著明な改善をみとめ、もう 1 例も治療前射出精液所見が精液量 1.2ml、精子濃度 $24 \times 10^6/\text{ml}$ 、運動率 0% であったがプロモクリプチン 2 カ月内服でプロラクチン値が急激に低下したため、手術をせず、ゴナドトロピン補充療法 (hCG 2,000IU + hMG 150IU 週 1 回) およびプロモクリプチン内服を 7 カ月継続したところ、精液量 1.6ml、精子濃度 $129 \times 10^6/\text{ml}$ 、運動率 32% と良好な治療効果を得た。他の 2 例は原疾患に対する治療のみであるが、精液所見の改善をみとめた。不妊を主訴とする例は妻に婦人科的異常があり、未だ妊娠には至っていないが性欲の低下および勃起障害は改善した。自験例はいずれも主訴が発症してから 6 カ月から 1 年と比較的早期に治療開始したため良好な治療成績が得られたものと考えられる。

6. DNA 結合領域に新しいタイプの遺伝子変異が見られた完全型アンドロゲン不応症の 1 例

○瀬川智也, 生水真紀夫, 炭谷宏志
揚恵 娟, 村上弘一, 井上正樹

(金沢大産婦)

完全型アンドロゲン不応症(Complete Androgen Insensitivity, Syndrome, CAIS)とは、アンドロゲンレセプター遺伝子の異常に起因し、男性型核型(46XY)でありながら、完全な女性の表現型を示す疾患である。今回我々は、DNA結合領域に新しいタイプの遺伝子変異が見られたCAISの1例を経験したので報告する。症例は22歳女性、原発性無月経の精査目的に当科受診された。生後6カ月時に両眼鼠径ヘルニアの手術の既往がある。3歳年上の姉は、12歳で初経があり、19歳ころより月経正順である。現病歴は、15歳の時に、原発性無月経を主訴に近くの病院を受診して染色体検査を受けた。その際に、“男性染色体があるのであきらめるしかない”との説明を母親が受けていた。最近、結婚を考える様になり、無月経のことが心配になった。知り合いの産婦人科医に相談したところ、当科での精査をすすめられ母親とともに来院された。身体所見は、身長160cm、体重45kg、BMI17.6、乳房Tanner stage III、恥毛Tanner stage II、小児様女性型外陰、臆盲端(7cm)、子宮・卵巣は欠如、両側鼠径部に母指頭大腫瘍を触知された。完全型アンドロゲン不応症の診断にて両側鼠径部腫瘍摘出術施行、病理診断はBilateral testisであった。インフォームドコンセントを得た後、患者リンパ球からDNAを抽出して遺伝子検査を行った。患者のアンドロゲンレセプター遺伝子にアミノ酸置換(Arg 585 Thr)が認められた。この部位はDNA結合ドメインに相当することから、Arg 585 ThrはDNA結合の障害をもたらすものと推定された。家族の遺伝子検査の希望により、母・姉はArg 585 Thrの保因者であることが判明した。文献的には、Arg 585 LysのCAIS症例が報告されているが、Arg 585 Thrの症例は報告されていない。以上、アンドロゲンレセプター遺伝子のDNA結合領域に新しいタイプの遺伝子変異(Arg 585 Thr)が見られた完全型アンドロゲン不応症の1例を経験した。

7. 無・乏精子症患者55例に対するSTS(sequence tagged site)法によるY染色体上微小欠失の検索

○中島美奈

(金沢大薬学)

高 栄哲, 並木幹夫

(金沢大泌尿器)

【目的】無・乏精子症はY染色体上微小欠失に関与し、従来より、無精子症責任領域はY染色体長腕遠位側上のAZF(Azoospermia factor)a, b, cの3領域に集中

していると考えられている。そこで、55例の無・乏精子症患者に対して、AZF領域の微小欠失検索を行った。【方法と対象】末梢白血球から抽出したゲノムDNAを用い、Y染色体特異的STSを利用して、PCRによって微小欠失を同定した。また、multiplex probeを12組作成し、AZFa, b, c, d領域を一度のPCRで検索できるように工夫した。【結果】無・乏精子症患者55名中11名(20.0%)の患者においてAZFb, c, dの3領域に欠失を認めた。RBM1単独欠失2名、RBM2単独欠失1名、DAZ(sY283)欠失1名を認めた。【考察】無・乏精子症患者の20.0%に欠失を認め、文献で報告されている値とほぼ一致した。RBM2単独欠失者は本邦初である。DAZ欠失者において、sY283のみを欠失しており、遺伝子の部分欠失を認める可能性を示唆した。

8. 「石川県における不妊実態調査」石川県厚生部アンケート調査

○朝本明弘

(石川県立中央病院産婦)

生殖医療技術の進歩は、不妊治療の飛躍的な成功をもたらした。しかし一方で、不妊症患者にとっては、多彩な治療法の中で自ら受ける治療の選択に迷い、長期にわたる治療の先の見えない不安に駆られ、また高額の治療費など、経済的、精神的負担は多大なものになっている。このような中、不妊症に対する社会的支援のため全国的に不妊相談センターの設置が進んでいる。石川県は、平成12年に設立を決め、その準備資料として、アンケートによる石川県における不妊症の実態調査を行った。日母石川県支部会員の81機関のうち45.7%から回答を得、また平成12年1月2月に治療中の患者の336名から回答を得た。回答者の年齢分布は30~34歳群が最も多かったが、35歳以上が23%を占めた。また、治療期間4年以上が20%を占め、治療の長期化がうかがわれた。そして回答者の70%弱が、治療のつらさを感じ、あるいは治療継続に悩みを持つと訴えた。不妊治療に対しての要望として、不妊に関する医学情報、病院情報、患者会、カウンセリング体制などをあげ、また体外受精の保険適用を望んでいる。さらに、治療が長期化するにつれ、夫や両親など周りの支援が得られにくくなり精神的に孤立化する傾向が見られた。不妊相談センターに対しては、90%近くに回答者が期待を寄せていることがうかがわれた。

9. 体重減少は PCO が原因か

○小辻文和, 折坂 誠, 細川久美子

松田和則, 後藤健次 (福井医大)

体重減少性無月経症例は体重回復の過程で多彩な視床下部-下垂体機能を呈する。演者らは、体重がほぼ回復したところに、LH の基礎値が FSH 基礎値を上回り、GnRH 負荷に対しても FSH よりも大きな反応を示す時期があることを報告してきた。このようなゴナドトロピンの分泌パターンが持続することで PCO に特有の卵巣像に移行するの否かは極めて興味深い。体重回復期の PCO 様のホルモン分泌パターンが 2 年 6 カ月持続した後に、超音波断層像にて多嚢胞卵巣を確認した 1 症例を経験した。そこで、1999 年 4 月から 2000 年 3 月に外来を受診し PCO と診断された患者について、無月経となる前の体重減少の有無を前方視的に調査したところ、18 例中 10 例で無月経となる前に体重減少があったことが確認された。以上の結果は、体重減少に起因する LH/FSH 比の上昇の持続が PCO の誘因の一つであることを示唆する。一般に PCO 症例では肥満を認めることが多いが、体重減少が誘因と考えられる症例ではスリムな体型にも関わらず内分泌学的に PCO のパターンとなる。このような症例では、卵巣の皮質付近の連珠状の嚢胞パターンをとらず、大小不揃いの嚢胞が卵巣の内部にも存在する。また、高 LH レベルにもかかわらず、パルス様分泌が明らかでないことが特徴的であり、振幅の小さい GnRH のパルスが頻発しているものと推察される。

10. 不妊症例に対する腹腔鏡下手術の成績

○副田善勝, 中島彰俊, 津田 恵

高木紀美代 (済生会高岡病院産婦)

【目的】不妊治療において腹腔鏡は検査・治療に不可欠な手段と考えられる。今回、不妊症例において腹腔鏡検査および手術がその後の妊娠予後にどのように影響するかを検討した。【方法・対象】対象は 1998 年 4 月から 1999 年 12 月までに、不妊症を主訴に受診し、その後腹腔鏡を施行した症例で、男性因子や卵巣不全症例を除いた 54 症例とした。全例腹腔内観察とともに通水および腹腔内洗浄を行い、必要に応じて腹腔鏡手術を施行した。原発性不妊 48 例、続発性不妊 6 例、平均年齢 30.7 ± 3.7 歳であった。腹腔鏡下手術後の各病態の妊娠率について検討した。【結果】腹腔鏡にて、異常所見なし 21 症例 (38.9%)、子宮内膜症 16 例 (29.6%)、卵

管閉塞・癒着 14 例 (25.9%)、卵巣腫瘍 3 例 (5.5%) が認められた。異常所見なし症例の妊娠予後は、妊娠 14 症例 (58.3%) で、自然妊娠 5 例、排卵誘発 5 例、AIH 1 例、IVF 3 例であった。自然・排卵誘発症例の 9 例 (37.5%) が 1 年以内に妊娠した。子宮内膜症例における妊娠予後は、rAFS 分類 stage I にて 80% (4/5)、stage II は 50% (2/4)、stage III は 50% (1/2)、stage IV は 60% (3/5) の妊娠率であった。IVF 妊娠を除く妊娠率は 43.8% であり、IVF 妊娠を含めると 62.5% であった。各 stage にて妊娠率に差を認めなかった。卵管・卵巣癒着症例において、腹腔鏡下手術 (癒着剥離術および卵管開口術) 後に 4 症例 (28.5%) の妊娠率が得られた。片側 AFS 付属器癒着スコアが 10 点以上、または左右 AFS 付属器癒着スコアの合計が 30 点以上の症例に自然妊娠は認めなかった。【結論】不妊症例において、腹腔鏡下手術は有用な手段であり、また、その後の ART を考慮するうえでも重要であると考えられる。

11. N₂ gas Generator による窒素ガスを用いた低酸素培養法の検討

○豊北美穂, 前多亜紀子, 佐藤真由美

山崎裕行, 道倉康仁

(永遠幸マタニティクリニック)

【目的】哺乳動物胚の培養法が高酸素から低酸素への移行に伴い、低酸素培養システムの必要性が不可欠とされてきている。そこで今回、従来法における低酸素培養法に変わるものとして、N₂ gas Generator を用いた低酸素培養法の有効性を検討した。【方法】① N₂ gas Generator と液体窒素ボンベの窒素ガスの成分比較を行った。② 圧力弁を調整後、5 分間扉解放後の定常酸素濃度 (5%) までの回復時間の比較を行った。③ マウスの前核期胚を用いて分割胚、胚盤胞までの移行率の比較を行った。④ ヒト分割凍結胚を用いて胚盤胞への移行率の比較を行った。【結果】N₂ gas Generator の発生ガスは、液体窒素ボンベのそれと純度、酸素含有量、露点などにおいてはほぼ同格であった。扉解放後の定常酸素濃度への復帰時間は、相方共に 12 分前後で安定していた。また N₂ gas Generator と液体窒素ボンベを用いた低酸素培養においては、マウス前核期胚における分割胚、胚盤胞移行率は、各々 (46.5%, 41.1%), (74.0%, 90.0%) であり、ヒト分割凍結胚からの胚盤胞移行率も (60.0%, 40.0%) であった。【結論】すべての結果において、N₂ gas Generator と液体窒素ボンベに差は

認められず、また低コスト化と簡便さの面からも、N₂ gas Generator の使用は、今後ヒト胚の低酸素培養法において従来法と同様に十分使用可能であると考えられる。

第 43 回 日本不妊学会北海道地方部会総会

日時：平成 13 年 3 月 3 日（土）13:30～

場所：ムトウビル（札幌市）

1. テストステロン産生卵巣腫瘍を認めた不妊婦人の 1 例

○工藤正尊，三國雅人，石本真紀
光部兼六郎，佐藤 修，藤本征一郎
（北海道大周産母子センター）

患者は 1 月に不妊と月経不順ならびに多毛を主訴に当科を初診。陰核の肥大を認め、血中テストステロン (T) 値は 4.93ng/ml と異常高値を示し、第 2 度無月経状態であった。経腔超音波断層法と MRI 検査により左卵巣に直径約 2.5cm の充実性部位を認めたためテストステロン産生卵巣腫瘍を疑った。GnRH アナログ (酢酸リュープロレリン) の投与を 6 月より開始し、11 月には T、フリーテストステロン (f-T) とともに減少を認めた (開始前の約 70%)。hCG 10,000 単位筋注後 8 時間目で T、f-T とともにピークを認め 48 時間目で前値に戻った。11 月 14 日に腹腔鏡下左付属器切除術を施行した。病理組織検査では、左卵巣ステロイド細胞腫瘍、分類不能型であった。術後 T は正常値となった。男性においては LH 受容体の機能亢進変異により Leydig 細胞の過形成や精巣腫瘍の発生が起ると報告されているが、本症例も LH 受容体の機能亢進変異が腫瘍発生と関連している可能性があり非常に興味深い。

2. 凍結胚移植のホルモン補充周期に用いる estrogen 製剤の種類と投与量について

○東口篤司，金沢朋扇，栃尾和美
長沢邦彦，野田雅也，高階俊光
（斗南病院産婦）

凍結胚移植のホルモン補充周期として国内では通常 estradiol 17β の塗布が用いられる。現在種々の estradiol 17β 塗布薬剤が使用可能だが、多くはエストラダーム TTS が用いられてきた。しかしエストラダーム TTS は皮膚炎を起こしやすく、最近、皮膚炎を起

しにくいエストラダーム M が開発された。しかし各々 estradiol の放出率が異なり、どの薬剤をどの程度塗布すべきかについては現在でも確立しているわけではない。そこで正常妊娠における血中 estradiol を基準として、これらの薬剤の至適投与量を検討した。またエストラダーム M でも皮膚炎を起こすことがある。その場合は estradiol 17β valerate の筋注が有用であり、その至適投与量も検討した。ホルモン補充療法は妊娠初期まで補充が必要である。妊娠初期における estrogen の過剰投与で胎仔の膣がんを懸念する報告が見られ、これら estrogen の凍結胚移植における投与量は重要な課題と考えられる。

3. 反復着床不成功例に対する簡便な Assisted hatching の試み

○上村淳一，石川麻希子，樋谷恵子
田熊直之，千石一雄，石川睦男
（旭川医大産婦）

【目的】現在広く行われている Assisted hatching はその方法にもよるが一般に操作が煩雑であり時間もかかる。しかしながら実際の臨床上、卵の aging や受精卵の体外培養、凍結融解操作により透明体が硬化し、hatching が阻害され、その結果、着床不全を引き起こしているであろうと考えられる症例が存在することは否定できない。そこで今回我々は簡便かつ短時間の操作で可能な Assisted hatching を適合症例に臨床応用した。【方法】胚移植 3 回以上着床不成功例の患者に対して同意を得た上で、acidic Tyrode's solution を使用し透明体外層を全周性に除去あるいは軟化皮薄化した胚を子宮内移植した。【結果】現在までに 4 例を施行し、そのうち 3 例に妊娠判定を行い (1 例は黄体維持期間)、43 歳の患者 1 例に妊娠が成立したが 8 週で流産となった。【結論】着床例を得られたことは今後に期待できるが、有用性の検討に関してはもう少し症例数を増やす必要があると思われる。

4. ウシ子宮内膜におけるプロスタグランジン (PG) 産生における上皮成長因子 (EGF) の役割：単離培養細胞および組織片を用いた検討

○福井秀樹，片桐成二，高橋芳幸
永野昌志 （北海道大学院獣医繁殖）

ウシ子宮内膜におけるオキシトシン (OT) 存在下での PG 産生調節における EGF の役割を検討するため、まず、黄体期初期および後期の子宮から採取・単離し

た内膜細胞を2日間プロジェステロン(P₄)添加培地で前培養した後、OT存在下で12時間培養してPGF2 α 産生量を比較したが、ステージによる差異はみられなかった。内膜単離細胞のOTレセプター(OTR)mRNA発現量を調べた結果、培養開始前に差異がみられても、P₄添加培地で前培養することによって同じレベルになることがわかった。そこで、異なる発情周期のステージに採取した子宮内膜組織片をP₄添加培地での前培養なしにOT存在下で8時間培養した結果、子宮内膜におけるOTR発現量に比例したPGF2 α 産生パターンが得られた。さらに、EGFを添加することによって発情周期のステージに拘らず、PGE₂産生量が増加し、PGE₂/PGF2 α 産生量比の高まることが示された。

5. マウスの卵子、胚および胎子臓器における脱共役タンパクの発現

○古畑ちひろ, 片桐成二, 高橋芳幸

永野昌志 (北海道大大学院獣医繁殖)

木村和弘, 斉藤昌之

(北海道大大学院獣医化学)

個体レベルでのエネルギー代謝調節に重要な働きをするとされている脱共役タンパク(UCP-1, -2および-3)の卵子、初期胚および胎子における遺伝子発現をRT-PCR法により検討した。成体では褐色脂肪組織に特異的に発現しているUCP-1は、卵子から胚盤胞にいたる全てのステージと胎子の複数臓器で発現が確認された。UCP-2は卵子、胚および採取した全ての胎子臓器で発現が認められ、成体での広範囲な発現と一致していた。成体では褐色脂肪組織、骨格筋、心臓などに発現しているUCP-3は、卵子から胚盤胞では検出できなかったが、胎子においては、成体では発現のみられない複数の臓器でも発現していた。以上の結果より、UCP-1および-3の発現様式は発生期と成体で大きく異なることが明らかになるとともに、3種の脱共役タンパクが発生の過程で何らかの役割を担うことが推察された。

6. ブタ単為発生および核移植胚の発生に及ぼす電気刺激後のシクロヘキシミド処置の影響

○鈴木雅美, M.A. Martinez Diaz

香川マスミ, 池田幸司, 高橋芳幸

(北海道大大学院獣医繁殖)

核移植胚の作出効率の改善を目的とし、まず、電気刺激により作出した単為発生卵子の発生に及ぼすいく

つかの要因を検討した。単為発生卵子の発生培地(NCSU-23培地と20種のアミノ酸を含むmSOF培地)を比較した結果、NCSU-23では胚盤胞への発生が見られたが、mSOFではほとんどが2~4細胞期で発生を停止した。卵子の成熟培地に上皮成長因子を添加したが、単為発生卵子の発生に改善は認められなかった。次に、電気刺激後にシクロヘキシミド(CHX)処置を施すと、単為発生卵子の胚盤胞への発生率は無処置群と比較して高くなった(19 vs 54%, $p < 0.05$)。そこで、血清飢餓培養したブタ卵丘細胞を除核した卵子に移植し、電気刺激により活性化させた後CHX処置を加えると、胚盤胞への発生率は無処置群と比較して高くなり(4 vs 16%, $p < 0.05$)、電気刺激後のCHX処置の有用性が示された。

7. 射精精子表面構造の原子間力顕微鏡による解析

○足立祐二 (足立泌尿器科クリニック)

高野広子, 阿部和厚 (北大生体機能形態)

篠島弘和, 村雲雅志, 野々村克也

小柳知彦 (北大腎泌尿器外)

【目的】射精精子の頭部の表面構造を解析する。【方法】ヒト射精精子を液化し、試験管の底においてタイロッド液を注ぎ、上昇してきた精子を含む試験管の上半分の液を集めて遠心洗浄した(2,000回転10分3回)。これを2%グルタルアルデヒドで1時間固定後遠心して、適当な濃度の精子浮遊液を作り7mm角のスライドガラスに貼り付けた。ガラスごと精子をエタノール脱水し酢酸イソアミルで置換した後、臨界点乾燥して原子間力顕微鏡で観察した。【結果】ヒト精子は5 μ m \times 3 μ mの楕円形の頭部をもち、表面は全体的に直径0.1 μ m以下の細かい球状粒子に被われていた。表面構造は先体部と先体後部とで異なり、先体部のなかでも前半部と後半部(赤道部)とで異なった表面構造を呈していた。【結論】これまで報告のなかったヒト射精精子の表面構造を微細なレベルまで原子間力顕微鏡で観察することができた。精子の表面構造の部位差は、膜の部位による機能の違いを反映していると考えられる。

8. 精巣腫瘍に対する神経温存後腹膜リンパ節郭清術

○原林 透, 篠原信雄, 佐澤 陽

安部嵩重, 土屋邦彦, 柿崎秀宏

野々村克也, 小柳知彦

(北海道大大学院腎泌尿器外)

【目的】精巣腫瘍に対する神経温存後腹膜リンパ節郭清術の有用性を検討する。【対象と方法】1990年～1999年に神経温存後腹膜リンパ節郭清術を試行した精巣腫瘍患者13例を対象として、病期、術式、合併症、機能温存について検討した。臨床病期は、病期1:8例、病期2～3:5例である。全例腹部正中切開後、内臓脱転(8例)を行い、後腹膜リンパ節に至った。病期1で全例、病期2～3では3例の両側神経温存が可能であった。最近の2例では神経刺激装置を用い、内視鏡、尿道圧モニターにより内尿道口収縮反射を確認した上で神経を温存した。【結果】病期1では7例(88%)、病期2～3では4例(80%)が射精可能であった。合併症として、肺炎1例、遷延する腸管麻痺4例を認めたが重篤なものはない。経過中、後腹膜リンパ節に再発を認めた例はない。【結語】神経温存後腹膜リンパ節郭清術は、治療成績を落とすことなく、射精機能の温存が可能な有用な術式である。

9. 脊髄損傷による射精不能患者2例に対する電気射精の経験

○笹尾拓己, 伊藤直樹, 塚本泰司

(札幌医大泌尿器)

東口篤司

(斗南病院産婦)

症例1は30歳。20歳時、交通事故によりTh8～9圧迫骨折により射精不能となった。7月、Seager型電気射精装置を用い精液を得たが精子回収は不可であった。症例2は34歳。20歳時に多発性硬化症によりTh8レベルでの脊髄障害を発症し射精不能となった。他院にて電気射精を2回行ったが精子回収は不可であった。1月、Seager型電気射精装置を用い精液を得たが精子回収は不可であったため、3月に再度施行し精子を得た。しかし、遠沈操作の際、精子が切断またはtrapされたため、溶解させた凍結精液中に精子を認めなかった。4月、再び電気射精で精子を回収しICSIを行った所、受精卵を1個得たが妊娠は成立しなかった。10月、TESE-ICSIを行うも妊娠の成立をみない。2例共に電気射精中に血圧の上昇、疼痛、痙攣、直腸損傷などの副作用を認めず、安全に精液の回収が可能であった。

10. 当科における精路再建術の臨床的検討

○伊藤直樹, 笹尾拓己, 塚本泰司

(札幌医大泌尿器)

高木誠次

(倶知安厚生病院泌尿器)

【目的】補助生殖技術(ART)の進歩は高度乏精子症、非閉塞性無精子症例に恩恵を与えている。一方、閉塞性無精子症は精路再建術により自然妊娠が期待できるものである。当科における顕微鏡導入後の精路再建術の結果を検討した。【対象と方法】対象は顕微鏡下精管精管吻合術11例(精管結紮後5例、小児期そけいヘルニア術後6例)、顕微鏡下精管精巣上体管吻合術3例である。いずれも顕微鏡下に粘膜を10-0ナイロンで4～6針、筋層を9-0ナイロンで6～8針縫合した。小児期そけいヘルニア術後の精管精管吻合術で交叉性吻合を3例に行った。【結果】精管精管吻合術では11例中8例(精管結紮後5例中4例、そけいヘルニア術後例6例中5例)で精子濃度 $0.6\sim 56\times 10^6/ml$ (中央値 $37\times 10^6/ml$)の精子が出現した。精管精巣上体管吻合術では3例中3例で精子濃度 $0.26\sim 10^6/ml$, $57\times 10^6/ml$ の精子の出現が認められた。【結論】症例数は少ないが、開通性は比較的良好であり、さらに症例を重ねて成績を高めたいと考えている。閉塞性無精子症例に対しては、ARTを行う前に精路再建術施行を考慮すべきである。

11. OHSS ハイリスク症例に対する全胚凍結ならびに GnRHa 継続投与の効果について

○千田 学, 遠藤俊明, 長澤邦彦

林 巧, 逸見博文, 北島義盛

木谷 保, 藤井美穂 (札幌医大産婦)

東口 篤 (斗南病院)

神谷博文, 森若 治

(神谷レディースクリニック)

卵巣過剰刺激症候群(OHSS)には、hMG-hCGそのものによって発症するearly onset typeと妊娠性のhCGによるlate onset typeがある。OHSSのハイリスク群に対しては、その発症予防のために全胚凍結が勧められているが、この方法ではlate onset typeのOHSSしか発症を予防できず、early onset typeでは、その確実な予防法はなかった。我々はラットのOHSSモデルを使って、GnRHaが卵巣への直接作用でOHSSの発症にかかわるVEGF発現を抑制する事を報告してきた。今回GnRHaを採卵時のhCG投与後も1週間継続することでearly onset typeのOHSSを予防できるかどうか検討した。全胚凍結した例の白血球数、ヘマトクリット、血小板数、入院を要する腹水貯留、受精率などについて比較検討したので報告する。

12. ART での排卵誘発法の個別化とその成績

○森若 治, 神谷博文, 田中恵美

八木亜希子, 下大澤とし恵, 前川奈美

(神谷レディースクリニック)

【目的】不妊専門クリニックとして約 2 年間で 808 例の妊娠例を得, 215 例(26.6%)が ART による方法であった。不妊治療の個別化が進む中でその手技も多様化し排卵誘発法も個別化してきている。今回 ART における排卵誘発法別の治療成績を示す。【対象・方法】1998 年 12 月から 2001 年 1 月末までの ART を施行した排卵誘発法別の治療成績を示す。【成績】排卵誘発法は, Ultralong 法, Long 法, Short 法, OC-GnRHa 法, Clomiphen-hMG 法, 自然周期法の症例当たりの妊娠率は体外受精・顕微授精を含めた新鮮胚移植では, 40.0%, 24.5%, 21.1%, 26.8%, 29.4%, 0% で凍結胚移植では, 31.1%, 36.0%, 35.3%, 22.9%, 24.1%, 0% であった。【結語】子宮腺筋症を含む子宮内膜症は Ultralong 法, Long 法と Short 法の長所・短所を補う OC-GnRHa 法, poor responder や high responder 症例に Clomiphen-hMG 法, PCO 症例に体外培養・体外受精での無排卵誘発法など排卵誘発法においても工夫や個別化により副作用の軽減や妊娠率の向上を目指している。

13. 初期流産の細胞遺伝学的検討

○植谷恵子, 千石一雄, 田熊直之

上村淳一, 石川睦男 (旭川医大産婦)

【目的】当科における不妊治療後の初期流産に関して細胞遺伝学的な検討をおこなった。【対象および方法】1989 年以降の自然流産において絨毛の染色体分析が可能であった妊娠 15 週までの自然流産 67 例 (ART 群 22 例, 排卵誘発群 6 例, 自然妊娠群 39 例) を対象とした。流産処置にて採取した絨毛組織を用いて培養法および G-分染法により標本を作製し染色体分析を行った。【成績】染色体異常が認められたのは ART 群では 13 例(59%)であり, トリソミー 7 例, モノソミー 3 例, 倍数体 3 例であった。排卵誘発群では 4 例 (67%) で, トリソミー 2 例, モノソミー, 構造異常が各 1 例であった。自然妊娠群では 29 例 (74%) で, トリソミー 17 例, モノソミー 4 例, 倍数体 2 例, 構造異常 6 例であった。染色体異常の頻度は 3 群間で有意差はなかった。3 群をあわせた異常核型の内訳はトリソミー 57%, モノソミー 17%, 倍数体 11%, 構造異常が

15% であった。【結論】妊娠成立様式にかかわらず初期流産の多くが染色体異常に起因することが示唆され, 不妊治療と染色体異常との関連性は否定的であった。

特別講演

閉塞性無精子症の診断と治療：自然妊娠を目指して

松田公志

(関西西大泌尿器)

閉塞性無精子症は無精子症患者の約 1/4 と頻度が高く, 手術で妊娠性を回復できることから, 不妊症臨床において重要である。ART の進歩普及が著しい今日, 治療として精路再吻合術と精巣精子での ICSI のいずれを選択すべきか, 不妊症専門医の間でも意見の隔たりが大きい。演者の経験をふまえ, ART 時代の閉塞性無精子症の診断と治療について, 全国多施設での調査結果や精巣上体精管吻合術の術式を含めて述べる。1985 年から演者が精管精管吻合術または精巣上体精管吻合術を行った閉塞性無精子症患者 82 名の最終妊娠率は, パイプカット後症例で 45%, ヘルニア術後症例で 43%, 精巣上体精管吻合術を受けた症例では 44%, 全症例では, 41% であった。精路再吻合術では ART に比べて, 複数回の妊娠が可能, 射出精子で繰り返し ART が可能, などの利点があるが, ヘルニア手術後症例で再手術率が高い難点がある。再吻合術と ART の成績, さらに女性因子を考慮に入れて, 十分なインフォームドコンセントのもとに治療法を選択すべきと考える。

第 47 回 日本不妊学会春季九州支部会

日時：平成 13 年 4 月 15 日 (H) 9:00~14:33

会場：アクロス福岡 (福岡市)

1. 出生前遺伝子診断が必要であった 2 症例

○田中 温, 永吉 基, 栗田松一郎

馬渡善文, 田中威づみ(セントマザー産婦)

当院にて出生前遺伝子診断が必要であった 2 症例を報告する。症例 1：妊婦 37 歳, 第一子が福山型先天性筋ジストロフィー (FCMD) と診断された。その後 1 回自然流産, 第二子希望にて初診, AIH で妊娠した。FCMD の出生前診断を希望され妊娠 10 週に絨毛を採取し, 遺伝子分析を行った。家族 (両親, 第一子) のマイクロサテライト DNA 多型分析の結果, 第二子は

第一子と全く同様のハプロタイプを示しており、遺伝学的に FCMD と診断された。症例 2: 妊婦 37 歳, 拳児希望にて初診, 34 歳, 35 歳に IVF-ET 後, 子宮内胎児死亡。染色体検査で 46X, der(X), t(X;Y), (P22.3;q11.2), 性染色体の構造異常を認め, 精査の結果, SHOX 遺伝子の欠失が判明した。3 回目の妊娠後(IVF-ET) 本人達の希望により絨毛採取し, 遺伝子診断を行った。その結果は母親と全く同様の結果であった。

2. FISH 法による卵の染色体分析: 極体から作成した metaphase chromosome による染色体診断の試み

○馬渡善文, 高崎博幸, 田中 温
永吉 基, 栗田松一郎, 田中威づみ
竹本洋一, 岩本智子, 鎌田恵里
竹本佳世 (セントマザー産婦)

女性側が染色体構造異常のキャリアの場合, 極体を用いて, 卵子または女性前核の染色体構造異常の有無を診断することが可能と考えられる。今回我々は, 極体による染色体診断の可能性について検討を行った。患者の同意を得て, 採卵時 GV 期または MI 期の未成熟卵, MII 期卵および顕微授精後の未受精卵を対象とした。MII 期卵や未受精卵より第 1 極体をプライムテック社製ピエゾマイクロマニピュレータにて採取した。また, GV 期または MI 期卵を体外培養し MII 期となった卵に電気刺激をおこない, 放出した第 2 極体と第 1 極体を採取した。電気刺激にて活性化した MII 期卵に, 採取した極体を注入, 24 時間後に 2PN(+)を確認, vinblastine (0.1 μ g/ml) で一晚培養, 翌日 2PN 消失を確認した後 0.25% プロナーゼ内で透明帯を溶解除去し卵を固定, 極体の染色体標本を作製, Vysis 社製 DNA プローブで FISH 法を行い蛍光顕微鏡下に観察した。固定後全ての極体標本で FISH シグナルを認めた。しかし極体のままでは染色体同士の重なりが大きく, 診断が困難な時もあるが, 極体の metaphase chromosome 標本では, 染色体同士の重なりも少なくより正確な診断が可能と考えられた。

3. FISH 法を用いた再凍結胚の染色体解析

○大津英子, 公文麻美, 平井香里
熊迫陽子, 長木美幸, 宇都宮隆史
(セント・ルカ産婦)

【目的】近年 ART の質は全体的に改善されており, 妊娠及び出産率も向上している。反面, 多胎率も上昇し

ており, 品胎を避けるため移植胚を極力 2 個に限定する必要がある。そのため凍結融解余剰胚の利用も考えられるようになってきた。いくつかの施設では再凍結を行っているが, 2 度にわたる凍結融解が染色体に及ぼす影響が危惧される。今回我々はそのような再凍結胚の染色体異常率を解析することを目的とした。【方法】前核期に緩慢法で凍結された胚を融解後 day 3 まで培養し, 移植した後の余剰胚を day 5 まで追加培養を行った。その内, 胚盤胞にまで至った胚をインフォームドコンセントを得て, vitrification 法にて凍結後融解し, 1 日若しくは 2 日培養した後スライドグラスに固定した。FISH は CEPI (Vysis 社) プローブを用いて行った。【結果】再凍結胚においても形態良好胚は, 2 倍体の細胞が 96.5% と非常に高い結果が得られた。やや形態の劣る胚においても 79% であった。Fresh な胚を day 5 にて vitrification を行ったコントロールにおいても同様の結果がみられ, 染色体のモザイク率は凍結回数に関わらず胚の形態に関係することが示唆された。

4. ヒト卵管液の性状からみた sequential medium の問題点の検討

○田中威づみ, 田中 温, 永吉 基
栗田松一郎, 馬渡善文, 竹本洋一
高崎博幸, 岩本智子, 長野亜紀子
鎌田恵里, 竹本佳世 (セントマザー産婦)
楠比呂志 (神戸大農学部附属農場)

【目的】近年, 人体外受精の向上の為に新しいメディウムの開発が報告されている。しかしながら, その内容に関してはまだ不十分な点が多く含まれると思われる。我々は, 排卵時期におけるヒト卵管液を分析し, その結果に基づいたメディウムを作成している。今回, このヒト卵管液と市販されている Cardner の G₁ と G₂ と Quinn's の Cleavege Medium と Blastocyst Medium を用いて, マウスの体外培養を行ったので, その結果について報告する。【方法】♀B6C3F1 と ♂DDY のマウスの体外受精卵を, 各メディウムで培養し, 発生率, ハッチング率を比較した。【結果】各メディウムの発生率およびハッチング率はそれぞれ, 265/470 (56.4%), 229/263 (87.1%), 51/136 (37.5%), 38/51 (74.5%), 31/50 (62.0%), 15/28 (53.6%) であった。

5. 3 日目胚移植における HFF Medium の臨床成績

○長木美幸, 公文麻美, 平井香里
 大津英子, 熊迫陽子, 宇都宮隆史
 (セント・ルカ産婦)

【目的】近年, さまざまな培養液が市販されている。今回, 当院でヒト卵管液の成分に近似した組成を有する HFF Medium と当院で従来使用している HTF Medium について, その臨床成績を比較検討した。【方法】対象は 2000 年 8 月 1 日より 2000 年 12 月 5 日までに当院で体外受精胚移植を行い, 体外受精施行回数が 5 回以上, あるいは年齢が 35 歳以上の 52 周期である。内訳は, HFF Medium 群 20 周期, HTF Medium 群 32 周期である。【結果】年齢(HFF 群 36.5, HTF 群 37.0), 卵子数 (6.6, 8.3), 移植胚数 (2.6, 2.9), 採卵時内膜 (10.6, 11.1), 体外受精施行回数 (10.0, 6.5), 受精率 (78.6, 76.0), 妊娠率(15.0, 21.9), 流産率(33.3, 14.3), 移植キャンセル率(5.0, 3.1)に有意差は認めなかった。【結論】HFF Medium は, 従来の HTF Medium と同等の臨床成績が得られた。

6. 第一精母細胞の共培養下における成績の検討—Vero 細胞 vs. ヒト成人皮膚由来繊維芽細胞—

○岩本智子, 田中 温, 田中威づみ
 永吉 基, 粟田松一郎, 馬渡善文
 竹本洋一, 高崎博幸, 長野重紀子
 鎌田恵里, 竹本佳世 (セントマザー産婦)
 楠比呂志 (神戸大農学部附属農場)

【目的】昨年の不妊学会で我々は Vero 細胞上で第一精母細胞を培養することにより, 円形精子細胞に分化, 発育することを報告した。今回我々は, Vero 細胞の代わりにヒト由来の feeder cell を用いた同実験を行い, 有用な結果を得たので報告する。本実験は, 全て患者の同意の下に行われた。【方法】精巣を RBC Lysing buffer で洗浄後, 眼科用尖刀で細切し, 第一精母細胞の選別を行った。Confluent となった Vero 細胞上, およびヒト成人皮膚由来繊維芽細胞上に静置した。培養液は, 10% ヒト血清添加ヒト人工卵管液, または 10% ヒト血清添加 MEM を使用した。【結果】体外培養における第一精母細胞の分裂細胞数を比較すると, Vero 細胞上で 2 個, 3 個, 4 個になったものは, 7.7%(26/339), 2.7%(9/339), 5.0%(17/339), ヒト成人皮膚由来繊維

芽細胞上では 8.8% (19/216), 1.9% (4/216), 4.6% (10/216) であり, Vero 細胞とほぼ同様の結果となった。

7. Feeder cell との共培養下におけるヒト胚の発生に関する検討

○竹本佳世, 田中 温, 永吉 基
 粟田松一郎, 馬渡善文, 田中威づみ
 竹本洋一, 高崎博幸, 岩本智子
 長野重紀子, 鎌田恵里
 (セントマザー産婦)
 楠比呂志 (神戸大農学部附属農場)

【目的】IVF・ET の臨床成績向上の為には, ①sequential medium の使用, ②feeder cell との共培養の両法がある。今回, 我々は後者の観点より実験を行い, 有用な結果を得たので報告する。【方法】feeder cell は, ヒト卵管細胞, ヒト内膜細胞, マウス繊維芽細胞, Vero 細胞を用いた。胚としては, 凍結余剰胚及び余剰胚を患者の同意のもとに使用した。それぞれの feeder cell をトリプシン処理し, 細胞浮遊液でドロップを作り, ミネラルオイルで覆い 37°C, 5%CO₂ in air で培養した。培養液は, ①10% ウシ胎児血清添加 MEM, ②10% ヒト血清添加 HTF, ③ヒト人工卵管液を用いた。1 つのドロップの中に 1~3 個の胚を静置し, 2 日おきに半量のメディアウムチェンジを行い, 朝夕, 2 回観察した。【結果】feeder cell と共培養することにより胚発生能力が傾向を認めた。

8. 精子尾部及び頭部部分切除精子を用いた卵子活性化の検討

○竹本洋一, 田中 温, 永吉 基
 粟田松一郎, 馬渡善文, 田中威づみ
 高崎博幸, 岩本智子 (セントマザー産婦)

【目的】今回我々は, 精子尾部にも卵子活性化物質が存在するのではないかと考え, 精子尾部及び, 頭部を一部切除した精子を卵子に注入し, 活性化が起こるかどうかが検討した。【対象】患者の同意の下に未成熟卵子を対外培養して得られた MII 期卵子, 65 個を用いた。【方法】①尾部のみ②頭部先端より 2/3, 3/4 を切除した精子③頭部の赤道部のみをそれぞれ卵子に注入し, 第 2 極体及び, 前核の有無を観察した。【結果】尾部のみ注入では 52 個中 1PNIPB は 8 個 (15%), 頭部を 2/3 切除した精子の注入では, 6 個中 1PNIPB は 3 個 (50%), 2PNIPB は 1 個 (16%), 頭部を 3/4 切除した精

子の注入では、3個中全てPN(-)IIPB(-)、赤道部のみの注入では、4個中1PNIIPBは2個(50%)であった。【結論】以上の結果より、尾部のみ注入では卵子の活性化の割合は低く、1個の卵子を活性化するには頭部を1/3以上注入しなければならないことがわかった。

9. 静脈麻酔薬プロポフォールを用いた採卵麻酔

○栗田松一郎, 田中 温, 永吉 基
馬渡善文, 田中威づみ(セントマザー産婦)
松本尚浩 (九州厚生年金病院麻酔科)

【目的】ARTにおける採卵において、従来、当院では、ジアゼパムとケタミンを用いた静脈麻酔(以下KD麻酔)を行ってきたが、1998年よりプロポフォールと笑気ガスを用いた麻酔(以下GOPL麻酔)を導入した。以降2年半にわたり、3,000例以上の症例を経験しているが、今回これらの麻酔方法を用いた採卵について、患者の自覚所見について調査し検討した。【結果】採卵終了から完全な覚醒までの時間KD群での3.2時間(平均)に対し、GOPL群では16分であり、帰宅前の外来診察までの時間が前者で5.1時間、後者で2.4時間だった。主な訴えとして、KD群では、不快な夢・恐怖・不安28%、悪心・嘔吐23%があるが、これらはGOPL群でそれぞれ4%、5%であった。両方の麻酔を体験した患者のうち、84%はGOPL麻酔がより快適であったとし、次回の採卵をする場合にKD麻酔を希望したのは2%であった。【考察】従来のKD麻酔と比較すると、GOPL麻酔は採卵時の麻酔として適していることが示唆された。プロポフォールの副作用(覚醒遅延、心室頻拍)や、リドカイン中毒などに対する十分な注意が必要と思われる。また、酸素飽和度モニターを使用し、気道の確保に十分な注意を払うなどの術中の呼吸管理が重要である。

10. ヒト卵管上皮細胞を用いた生殖医療における臨床的有用性の検討

○熊迫陽子, 公文麻美, 平井香里
大津英子, 長木美幸, 宇都宮隆史
(セント・ルカ産婦)

【目的】妊娠困難例に対する有効な治療法は、いまのところ確立されていない。そこで、従来の方法では受精卵の発育が思わしくないIVF施行症例に対して、卵管上皮細胞を培養したのちその細胞との共培養が有効であるかを検討することを目的とした。【方法】当院で腹

腔鏡検査を施行する症例にインフォームド・コンセントを得て卵管采を少量採取し、細切後 α -MEMで培養した。共培養の条件として①二重ディッシュに増殖させる②4wellディッシュに増殖させる③二重ディッシュに増殖させ、培養上清のみを用いる④6wellディッシュに少量ずつ増殖させるの4通りで上皮細胞を培養し、マウス凍結2分割胚を用いて検討した。【結果・考察】①の方法では7日目のhatched率は80%(コントロールは40%)、②の方法では50%(コントロールは50%)、③の方法では44%(コントロールは63%)、④の方法では43%(コントロールは36%)であった。更に、良好な共培養条件の検討が必要とされる。

11. 未受精卵の凍結方法の検討

○楯田恵里, 田中 温, 永吉 基
栗田松一郎, 馬渡善文, 田中威づみ
竹本洋一, 高崎博幸, 岩本智子
長野重紀子, 竹本佳世
(セントマザー産婦)
楠比呂志 (神戸大農学部附属農場)

【目的】採卵時にご主人の採精が不可能であった場合や結婚前に卵巣を摘出する必要が生じた場合には、未受精卵を凍結することが臨床上必要となることがある。そこで、今回我々は、各種条件のもとに未受精卵の凍結方法の検討を行ったので、その結果について報告する。【方法】1. 凍結保護物質の直接の影響を低下させる為に、操作中の温度を12.5℃と室温(28℃前後)で行った。2. 凍結保護物質としてエチレングリコール及びシュークロースを使用し、それぞれの濃度をかえ至適条件を検討した。3. 融解時の希釈段階を6段階と、15段階とで比較した。4. 蘇生した卵でICSIを行い、その後の胚発生を観察した。【結果】蘇生率については、1. 室温での凍結操作、2. 高濃度の凍結用媒液、3. 15段階希釈による融解が最も高率であった。胚発生率においては、低濃度の凍結用媒液を用いた方が胚発生率は高くなる傾向を示した。

12. Vitrification法による凍結胚盤胞の臨床成績

○元石睦郎, 江頭昭義, 杉岡美智代
梅林ツナ, 福田貴美子, 東島利紀
蔵本武志 (蔵本ウイメンズクリニック)

【目的】近年、Vitrification法によるヒト胚盤胞の凍結

保存法の臨床利用が報告されている。そこで今回は、Vitrification 法により凍結保存を行った胚盤胞を融解し、移植を行ったのでその結果を報告する。【方法】患者の同意のもと、OHSS 重症化予防を目的に胚盤胞で全胚凍結した症例あるいは胚盤胞移植後の余剰胚盤胞を凍結した症例を対象にホルモン補充周期下で胚盤胞を融解し移植を行った。Vitrification 法による胚盤胞の凍結は、桑山らの方法を参考に行った。【結果】9 症例を対象に Vitrification 法により凍結保存を行った胚盤胞を融解した結果、融解直後の生存率は 85% (22/26) で、3~5 時間の回復培養後の生存率は 81% (21/26) であった。また、9 症例全てにおいて移植が可能であり、7 例の 78% で臨床的妊娠が確認された。【結論】ヒト胚盤胞の凍結保存に Vitrification 法は臨床的にも有効な凍結法であることが示唆された。

13. 着床率から推察した胚盤胞移植における至適移植胚数の解析

○江頭昭義, 元石睦郎, 杉岡美智代

梅林ツナ, 福田貴美子, 東島利紀

蔵本武志 (蔵本ウイメンズクリニック)

【目的】胚盤胞移植における移植胚の胚質の違いによる着床率を比較することで、胚盤胞移植の至適移植胚数の解析を試みた。【方法】移植胚数 1 個あるいは同一胚質の胚盤胞を複数個移植した 74 周期を対象とし、胚質間での着床率を比較した。【結果】5 日目での胚盤胞の各胚質ごとに着床率を比較した結果、Good 胚 63%、Fair 胚 30%、Poor 胚 19% となり、Good 胚のみを移植した場合には高率な着床率が得られた。また、年齢ごとに Good、Fair、Poor 胚の着床率を比較した結果、30 歳未満: 78, 50, 100%, 30~34 歳: 61, 43, 25%, 35~39 歳: 44, 22, 6%, 40 歳以上: 100, 0, 17% となり、30 歳未満と 30~34 歳で Good 胚を移植した場合に高い着床率が得られた。【結論】現時点での検討では、Good 胚の場合は移植胚数 1 個でも良好な妊娠率が期待できると推察され、特に 34 歳以下の場合には移植胚数を 1 個にすることで、高率な妊娠率を維持しつつ双胎防止も可能と推察された。しかし、年齢の上昇と胚質の低下に伴い着床率も低下するため、30~34 歳で良好胚のない場合には 2 個、35 歳以上では胚質に依り、2~3 個の移植胚数の検討が必要と推察された。

14. 当センターにおける至適移植胚数の検討

○山田耕平, 隈本 巧, 河野由佳子

田内悦子, 西山和加子, 野見山真理

松本ゆみ, 小島加代子

(高邦会高木病院不妊センター)

渡邊英明

(順和会山王病院)

【目的】ART の成績向上に伴い多胎率も増加する傾向にある。当センターにおいても同様の傾向にある為、妊娠率を低下させず、かつ多胎率を減少させる至適移植胚数について検討した。【方法】1999 年 1 月から 2000 年 10 月までに Day 2 あるいは Day 3 胚移植を施行した 837 周期を移植胚数別に分類し、妊娠率・多胎率を比較した。【結果】移植周期あたりの妊娠率は 3 個移植 26.4%、2 個移植 29.0% であり、両群間に有意差は認められなかった。また、1 個移植では 11.8% であり、2 個移植に比べ有意に低下した ($p < 0.01$)。多胎率は、3 個移植 36.4% と 2 個移植 23.5% との間に有意差はないものの、2 個移植で低い傾向にあった ($p = 0.054$)。単胎率においては、3 個移植に比べ 2 個移植が有意に高かった ($p < 0.05$)。【結論】妊娠率を低下させずに多胎を防止するという目的における至適移植胚数は 2 個である。

15. 体外受精・胚移植における妊娠初期 HCG 値と妊娠予後に関する解析

○野原 理, 照屋陽子, 稲嶺盛彦

神山 茂, 金澤浩二 (琉球大学産婦)

体外受精・胚移植 (IVF-ET) による妊娠では、自然妊娠に比べ多胎率、流産率が高くなることが報告されている。そのため早期に妊娠予後を予知することは以後の治療、患者の精神的ケアに関しても有用であると考えられる。そこで本研究では胚移植後 12 日目の血中 hCG 値が妊娠予後の予知因子となり得るかどうかを検討した。1997 年以降の当院の IVF-ET 妊娠例のうち胚移植後 12 日目に血中 hCG を測定した 53 症例を対象とした。妊娠 12 週以前の流産例を流産群とし、妊娠継続例を単胎妊娠群、多胎妊娠群に分類し解析を行った。流産群の血中 hCG 値は 95.20 ± 55.90 mIU/ml ($n = 17$) で、単胎妊娠群 152.39 ± 76.07 mIU/ml ($n = 25$)、多胎妊娠群 381.89 ± 170.20 mIU/ml ($n = 10$) に比べ有意に低かった ($p < 0.05$)。また多胎妊娠群は単胎妊娠群に比べ有意に hCG 値が高かった ($p < 0.05$)。流産群のうち染色体検査を行った 10 例中 8 例に染色体異常を認めた。染色体異常群、染色体正常群の間に hCG 値の差は見られなかった。IVF-ET において胚移植後 12 日目の血中 hCG 値は妊娠予後を予知する上で有用である

可能性が示唆された。

16. Hatching 障害と加齢の関係—ヒト体外受精卵における検討—

○桑波田理樹, 沖 利通, 山崎英樹
中江光博, 堂地 勉, 永田行博

(鹿児島大学産婦)

【目的】体外受精胚移植において、形態良好胚を移植してもなかなか妊娠に至らない症例をしばしば経験する。8細胞期胚以降の発育障害か hatching 障害か着床障害のいずれかの可能性が考えられるが、これに関する報告はない。今回、我々は患者の同意のもと、体外受精余剰胚(4細胞期胚)を胚盤胞以降まで培養し、卵発育のどの過程でどの程度の障害が起こっているかを検討し、若干の知見を得たので報告する。【方法】対象は当科で過去3カ月間に体外受精胚移植を受け、十分な informed consent の上同意を得た15症例15周期である。採卵時、授精後18時間後、その後は24時間毎に、卵をビデオテープに録画し卵形態観察した。症例を20歳代(A群)、30~34歳(B群)、35~39歳(C群)、40歳以上(D群)の4群に分類し、統計学的有意差検定を行った。【成績】胚盤胞率：A群；60.0% (3/5), B群；50.0% (8/16), C群；37.5% (6/16), D群；20.0% (2/10)。hatching 率：A群；60.0% (3/5), B群；37.5% (6/16), C群；6.2% (1/16), D群；0.0% (0/10)。hatched 率：A群；40.0% (2/5), B群；25.0% (4/16), C群；0.0% (0/16), D群；0.0% (0/10)。胚盤胞からの hatched blastocyst 率：A群；66.7% (2/3), B群；50.0% (4/8), C群；0.0% (0/6), D群；0.0% (0/2)。透明帯厚：A群； $7.162 \pm 0.122 \mu\text{m}$, B群； $8.125 \pm 0.269 \mu\text{m}$, C群； $8.245 \pm 0.586 \mu\text{m}$, D群； $11.230 \pm 1.740 \mu\text{m}$ 。以上から年齢とともに特に35歳以降に、胚盤胞率・hatching 率が低下する。【結論】35歳以降に hatching 過程の障害が存在し、40歳以降では透明帯が厚いことも hatching 障害の一因となりうる。

17. IVF を受ける夫の精液検査結果での心理と現状

○宿利佳子, 原井淳子, 斉高美穂
二宮 睦, 指山実千代, 宇都宮隆史

(セント・ルカ産婦)

【目的】IVF を受ける夫の精液検査の良否の結果別にその心理の違いを知る。【対象・方法】当院で平成12

年3月~同年10月までIVFを行った夫婦116組の夫への質問紙を、採卵時に採精に来た夫、または妻へ配布、次回来院時回収。100人の回答を得た(回収率86.2%)。【結果】精液検査の結果が正常で安心したと答えた人は38人であり全体の中で38%、結果が異常で不安やショックを受けた人は55人であり全体の中で55%、IVFを受ける事で酒、タバコを減らし、身体に良い物を食べる等何らかの気を遣っている人は、異常の人が正常の人に比べ多く、またイライラ、不眠等IVFが原因で体調を壊した人も、異常の人の方が多く見られた。妻への手伝いや、仕事面の変化については、ほとんど差はなかった。【考察】精液検査で異常の人は、精神的、肉体的にストレスを受けている割合が正常の人に比べ高いが、家庭や仕事などライフスタイルについては全体的な差は無かった。今後男性不妊は益々増加傾向にあり、医療側から夫個人や、夫が妻へのサポートに対する援助も必要だと考える。

18. 当院における「ハットメモ」報告

○品矢悦子, 岩本ゆきみ, 指山実千代

宇都宮隆史 (セント・ルカ産婦)

【目的】最近、テレビやマスコミで「医療ミス」という言葉をよく耳にする。そこで、「医療ミスを起こさない」という意識の向上のため、当院でのミスの実態調査を行った。【対象・方法】2000年2月から12月の間に、「ハットメモ」として報告した107例の看護業務ミスを、北里大学病院統計分析シートを参考にミスの内容、原因、背景要因に分類した。【結果】ミスの発生場所は、外来が52.3%と半数を占めており、次いで病棟19.6%、手術室11.2%であった。ミスの内容は、注射・採血・点滴25.2%、処置・手術16.8%、検査14%であり、原因は、手抜ミス17.8%、機材・器具材料管理ミス15%、指示受けミス12.1%などであった。背景要因としては、教育・訓練42%が目立った。【結論】ミスの大小にかかわらず、その原因を追求し対策を考え、実施、評価し、同じミスを繰り返さないようにスタッフ間でミスを共有し教育、訓練していく事が大切である。

19. 生殖医療における継続的サポートグループの有効性

○伊藤弥生, 福田貴美子, 蔵本武志

(蔵本ウイメンズクリニック)

【目的・方法】当院では1997年より、不安や悩み、孤独感を抱える不妊患者の心理サポートを目的に継続的

サポートグループ「ひまわり」を開催している。このグループ活動の有効性を心理カウンセラーの患者記録の分析とアンケート調査により評価した。【結果】平均参加者数 8 名(1~17 名), 平均年齢 33 歳(26~44 歳)。心理士による患者記録の分析からは以下の結果が得られた。患者同士はグループ活動の中で、治療中止の問題など深刻な話題は避ける一方で、治療をめぐる不安や悩みの表出と共感、及び体験的情報の交換を有意義に行っていた。また、アンケート調査では、患者から以下の評価が得られた。仲間との出会いにより孤独感が解消された。治療に対する情報が得られ不安が解消した。内面の表出によりカタルシスが得られた。【考察】以上の結果より、生殖治療における継続的サポートグループは、治療中の患者にとって、不安や悩み、孤独感を解消し、前向きに治療に取り組んで行く助けとなり有効であった。

20. 診療所における電子カルテの導入と生殖医療領域への応用

○詠田由美, 池上芳美, 古賀裕紹

(詠田由美クリニック)

【目的】電子カルテは医師の診療と医療事務処理の労力を軽減する。さらにそのデータベース (dbase) 機能を利用してカルテと同一のデータを生殖医療領域に活用できる。今回我々はその試みとして、電子カルテ dbase を利用した自院内生殖医療 dBase を作成したので紹介する。【方法】院内にはサーバー PC 1 台, クライアント PC 7 台を設置し、受付、診察室、処置室、培養室、情報処理室に配置して情報を共有した。電子カルテには Professional Doctor32 (Pro Doc) を使用した。Pro Doc は 32 個のデータテーブルより成り、診療内容、投薬、処置、医療事務処理を患者 ID 番号をもとに記録する。Pro Doc dbase を利用し、自医院に必要な新たな dbase を作成した (NGT dbase system)。NGT dbase system には患者台帳・妊娠台帳・HSG 台帳・AIH 台帳・培養液台帳・IVF 台帳・凍結胚台帳・卵台帳を含み、患者へのデータ提供 (コンピューター画面を使用したインフォームド Consent)、院内カンファレンス (スタッフとのデータ共有)、統計解析に使用した。【考察】電子カルテは真正性の確保、見読性の確保、保存性の確保が求められるが、その使用については更なる改良が必要と考えられるが、その dbase 機能を利用して生殖医療領域での広い活用が期待される。

21. 子宮動脈塞栓術と子宮筋腫核出術後に妊娠 32 週で子宮破裂を来した症例

○西村佳与子, 松浦講平, 本田律生

岡村 均

(熊本大学産婦)

今回、我々は、他医での両側子宮動脈塞栓術 (UAE) 施行後に子宮筋層に感染を生じた過多月経のある挙児希望婦人に対し、抗生剤投与と Kaufmann 療法後に子宮筋腫核出術を施行して妊娠したが、妊娠 32 週で自然子宮破裂を来した症例を経験したので報告する。症例は 30 歳の未経妊婦人で、平成 10 年 3 月に紹介医で両側 UAE が施行された。術後に発熱と黄色帯下の増加を認め、平成 10 年 7 月に当科外来を紹介された。入院管理の上、抗生剤を投与し、外来で Kaufmann 療法を 7 カ月間行い、平成 11 年 8 月に 23 個の筋腫を核出した。平成 12 年 2 月に自然周期で妊娠が成立したが、妊娠 6 週で性器出血、下腹部痛、さらに超音波検査で術創と異なる子宮壁の菲薄化 (5mm) を認め、入院管理とした。妊娠 32 週 0 日早朝より臍周囲の痛みと陣痛様子宮収縮が発来し、切迫破裂の診断で緊急帝王切開を施行した。腹腔内出血と子宮底部漿膜の破綻を認め、子宮下部横切開にて児を娩出した後、陥入胎盤のため子宮全摘出を行った。

22. 部分下垂体機能低下と中枢性尿崩症を持つ原発性無月経の妊娠例

○沖 利通, 桑波田理樹, 山崎英樹

中江光博, 堂地 勉, 永田行博

(鹿児島大学産婦)

症例 33 歳, 原発性無月経である。5 歳時多飲・多尿を主訴に近医小児科を受診。尿崩症の診断で pitressin を投与されていた。9 歳時低身長を主訴に当院小児科にて入院精査を勧められたが、十分な検査をできず。21 歳時、原発性無月経を主訴に当科へ紹介となった。染色体異常などなく、第 2 度無月経のため Kaufmann 療法を行い、消退出血を定期的起こしていた。LH-RH テストによる低反応、GH 分泌不全を認めたが、副腎系内分泌検査・甲状腺機能検査も異常なかった。93 年から 9 周期にわたり hMG-hCG 療法を行うが、妊娠に至らず。甲状腺機能を再度評価し、軽度の甲状腺機能低下を是正後も妊娠にいたらず。1 日尿量は正常であったが、血清膠質浸透圧が 305mOsm と高く、1 日 pitressin 投与量を増加させ 275mOsm に低下させたところ、1 周期目の hMG-hCG 療法で妊娠が成立した。

尿管の排卵誘発においては、血清浸透圧の是正も重要な因子であることが示唆された。

23. Hystero-salpingo-contrast-sonography (HyCoSy) の経験—水様性造影剤 HSG との比較—

○吉田耕治, 石 明寛, 柏村正道
(産業医大産婦) (愛和病院産婦)

Levovist により超音波透視下に子宮卵管造影可能となったが、実際には卵管間質部以外は明視困難である。当科で最近1年間に Levovist-HyCoSy を14例行い、完全卵管閉塞と POF を除く10例中4例(40%)が術後半年以内に妊娠、同時期の19例の Isovist-HSG 後では、挙児希望16名中3名(19%)が妊娠した。Levovist に付属する溶解液の半量(10ml)で溶解し200mg/ml 溶液を用いた。子宮腔注入に通水用バルーンカテーテルを用い、インフュージョンポンプに装着した20mlの注射筒とはエクステンションチューブで接続した。経膈超音波のモニター画像のビデオ録画も原則的に施行した。【結論】Levovist には卵管を灌流することによる妊娠促進効果も多少はあると思われた。Isovist, Levovist-HSG を両方施行した患者では、Levovist の疼痛が少ないという患者が多数であった。

24. 当科における最近の OHSS の発生状況

○小野田親, 松浦講平, 西村佳与子
本田律生, 田中信幸, 岡村 均
(熊本大産婦)

不妊治療の進歩、特に hMG 製剤の併用と ART の普及により OHSS の発症増加が問題となっている。当科での88年から00年の13年間に OHSS の発生状況と管理について後方視的に検討した。最近10年間に入院管理を要した症例は10~20例/年で推移し横ばい状態であったが、このうち IVF-ET が占める割合が実際50%を越えるようになってきた。また、当科では92年より重症 OHSS 22例に対して低用量ドーパミン療法を行い、1~5例/年で特に増加は認めないが、17例は IVF-ET 後であった。全 IVF-ET 周期で重症 OHSS の発生頻度は1.1%であった。さらに、妊娠症例では遅延型で、ドーパミン投与期間と入院期間も延長していた。IVF-ET 以外では6例中3例が妊娠していたが、その3例とも多胎妊娠であった。辛い致命的な腎不全への移行や血栓発症例はみられなかった。低用量ドーパミ

ンが奏功した外陰部浮腫例を提示する。

25. 電子内視鏡技術を応用した子宮鏡の使用経験

○中江光博, 沖 利通, 桑波田理樹
山崎英樹, 堂地 勉, 永田行博
(鹿児島大産婦)

【目的】従来より当科では、子宮体癌の診断および頸部浸潤有無・不妊症例・子宮内膜ポリープなどの診断、子宮内手術に子宮鏡を用いてきた。消化器内視鏡では一般化している電子内視鏡でその画像はファイバースコープに比較して非常に優れていると言われる。今回、子宮鏡へ電子内視鏡技術を応用した子宮鏡を使用し、若干の知見を得たので報告する。【対象】対象は過去1年間に当科で子宮鏡を行った200例と電子内視鏡を行った10例である。【結果】ヒステロファイバースコープ(観察用3mm, 処置用5mm)と電子内視鏡(処置用5mm)はともに、子宮内腔に突出する病変の把握には非常に有用であるが、構造上ファイバースコープでは画像がモザイク状になり、子宮内膜の色調特に血管像や内膜表面の腺口構造がわかりにくい。電子内視鏡では子宮内腔表面の所見が硬性鏡に匹敵する良好な画像が得られ、頸管拡張の必要率・痛みの程度は処置用のヒステロファイバースコープと同等である。【結論】電子内視鏡構造を持つ処置用子宮鏡は、先端の flexibility の高さの点で患者への痛みが少なく、従来のファイバースコープ画像を凌駕する点で優れている。

26. 甲状腺機能および甲状腺抗体が不育症に及ぼす影響に関する検討

○井上純夫, 石丸忠之 (長崎大学産婦)
河野雅洋 (福岡・田中クリニック)

【目的】不育症において甲状腺機能異常および関連抗体が妊娠転帰に及ぼす影響を検討する。【方法】不育症382例を対象とし、甲状腺機能異常を認めた場合に甲状腺抗体を測定した。妊娠例については転帰を検討した。【成績】甲状腺機能異常を24例(6.3%)で認め、うち機能亢進3例(12.5%)機能低下21例(87.5%)であった。甲状腺抗体は機能亢進で全例、機能低下で12例(57.1%)が陽性であったが、甲状腺機能と甲状腺抗体との間に関連はなかった。妊娠した15例中挙児成功12例(亢進1例, 低下11例), 流産3例(亢進1例, 低下2例)であり、流産例は甲状腺機能が正常化する前の妊娠成立であった。甲状腺抗体は挙児成功例の8例, 流産例の3例に認められたが、妊娠転帰との関連

は認めなかった。【結論】甲状腺機能異常による不育症では、機能を正常化した上で妊娠を許可し、正常値を維持することが必要である。また甲状腺抗体が不育症に及ぼす影響は小さいと考えられた。

27. 反復流産例における各種治療効果について

○今石裕人, 友成廉平, 田島紀和子

宮嶋 諭, 堀 大蔵, 杉山 徹

西田 敬, 嘉村敏治 (久留米大産婦)

当科では反復流産に対して諸検査を施行し, その原因別に自己抗体陽性例や抗リン脂質抗体陽性例に対してステロイド療法か柴苓湯投与を行い, 原因不明の場合は母子間免疫不応答を考へ, 免疫療法を行っている。過去 5 年間 (1996 年 1 月から 2000 年 12 月) に当科を受診した, 2 回以上の自然流産の既往をもつ挙児希望の患者 170 例について, 原因検査および治療を行い, 以下の成績を得た。原因として, 重複例を含めて, 子宮異常 4 例, 抗リン脂質抗体陽性 50 例, 自己抗体陽性 33 例, 染色体異常 2 例であった。それぞれ治療の結果, 生児を得た症例は, 子宮異常 2 例, 抗リン脂質抗体陽性 22 例, 自己抗体陽性 14 例であった。原因不明と思われた症例 98 例のうち, 同意が得られた 59 例に対して夫リンパ球を用いた免疫療法を行った。そのうち 49 例が妊娠し, 38 例が生児を獲得, 3 例妊娠継続中であり, 免疫療法の成功率は 83% であった。

28. 不育症における Controlled Ovarian Hyperstimulation 法の有用性に関する検討

○澄井敬成, 園田桃代, 本庄 考

井上善仁, 瓦林達比古 (福岡大産婦)

不育症に対する一定の治療法は確立されていない。今回, 我々は, 不育症患者の治療法として排卵誘発法を用いた, いわゆる Controlled Ovarian Hyperstimulation (COH) 法の有用性について検討した。対象は, 平成 10 年 4 月より平成 12 年 12 月まで当院不妊内分泌外来において経過観察できた 49 例であった。クロミフェンや hMG による COH 法を使用し, その後の妊娠成績について検討した。COH 法の内訳は, クロミフェン療法 32 例, クロミフェン+hMG 療法 7 例, hMG+hCG 療法 10 例であった。自然周期妊娠成立 3 例を除き, COH 法周期妊娠成立はクロミフェン療法 12 例, クロミフェン+hMG 療法 4 例, hMG+hCG 療法 8 例の計 24 例であった。そのうち正期産, および現在妊娠継続中の症例は 18 例 (75.0%) であった。これらの結

果より, 不育症患者に対する COH 法は, 次回妊娠継続には有用な治療法であることが考えられた。

29. 当科における子宮外妊娠の検討

○アルズ・アブドラフマン, 江上りか

安藤文隆, 野崎雅裕, 中野仁雄

(九州大産婦)

【目的】子宮外妊娠は診断方法の向上に伴い, 早期診断が可能になった印象があるが, 今回その検証及び子宮内膜の超音波所見と病理所見を検討した。【対象】1989 年から 2000 年に当科で経験した子宮外妊娠 207 例。【方法】妊娠分娩歴, 開腹術既往, 子宮外妊娠既往, 入院時超音波断層法による子宮内膜の厚さ, 胎嚢様陰影の有無, 尿中 hCG 値, 子宮内容の病理診断, クラミジア感染既往を検討した。【結果】初回妊娠は 24.6%, 開腹術既往は 34.2%, 子宮外妊娠既往は 14.1% であった。胎嚢様陰影を 3.5% に認めた。クラミジア感染既往は 30.3% であった。子宮内容の脱落膜様変化を 74.8% に認め, 病理組織学的に 2 例で子宮内外同時妊娠の診断を得た。【考察】子宮内膜の厚さと尿中 hCG 値の相関はなかった。腹腔内出血がなく骨盤内に胎嚢を認めない症例は手術時期の決定が容易ではなく, そのような症例では子宮外妊娠のさらなる正確な診断法を検討する必要がある。

30. 子宮内膜症における活動性病変と増殖因子 (HGF, c-Met, VEGF, PCNA, VWF) の免疫組織発現に関する検討

○カレク・ネワズ・カーン, 藤下 晃

北島道夫, 蓮尾敦子, 宮村泰豪

増崎英明, 石丸忠之 (長崎大産婦)

Hepatocyte growth factor (HGF) およびそのレセプターである c-Met は細胞増殖, 遊走, 血管新生などに関与することが知られている。そこで内膜症病巣における活動性を評価する目的で種々の増殖因子および血管因子の免疫組織染色を行い評価した。対象は当科で腹腔鏡を施行した内膜症患者 15 例および非内膜症患者 10 例で, 骨盤内の各種病変および子宮内膜の生検材料を用いた。増殖因子として, HGF, c-Met, VEGF, PCNA および血管新生因子として von Willbrad factor (VWF) の各種抗体を用い, コンピューターによる画像処理 (QH スコア) を行った。内膜症患者の正所性内膜における HGF および c-Met の発現は腺上皮と間質にみられ, 非内膜症に比べ有意に強く発現していた。

また HGF と c-Met の QH スコアは VEGF と良い相関を示しており、内膜症病変では各種増殖因子の発現は、白色や黒色病変に比べ、赤色病変で有意に高く、血管密度も高かったが、r-AFS 進行期との関連は認めなかった。

31. マウス子宮虚血再灌流モデルにおける初期胚発育障害

○岡崎光男 (国立長崎中央病院産婦)
石丸忠之 (長崎大産婦)

C57BL/6 マウス子宮虚血再灌流モデルで (虚血 30～120 分後再灌流), 卵管障害モデルを作製し, 過排卵誘導後の初期胚発育に関して検討した (n=54)。再灌流時に SOD, catalase を投与し活性酸素を抑制した (n=12)。hCG 投与 24 時間後, 48 時間後に卵管中の初期胚の形態を観察した結果, 虚血再灌流側の卵は hCG 投与 24 時間後, 正常卵管に比べ metaphase II の卵が減少する傾向がみられ, 60 分虚血群では metaphase II はみられなかった。hCG 投与 48 時間後では, 60 分虚血群では正常群に比べ 2 細胞期卵が著明に減少した。SOD 投与群では, 2 細胞期卵が著明に増加した。このことから虚血再灌流障害を受けた卵管では, 受精率, 2 細胞期分裂が障害され, SOD 投与によって卵分割障害がレスキューされる可能性が示唆された。本モデル

は酸化ストレスによる卵管不妊モデルの研究に有用と考えられた。

32. 子宮内膜間質細胞における ENA-78 の発現

○奈須家栄, 橋原久司, 浦田憲一郎
宮川勇生 (大分医大産婦)

【目的】子宮内膜間質細胞 (ESC) は種々の chemokine を産生する。ENA-78 は CXC chemokine の 1 つで, 好中球の活性化, 遊走因子として作用する。我々は子宮内膜組織での ENA-78 の発現と steroid hormone によるその発現調節について検討した。【方法】内膜組織中 ENA-78 濃度 (増殖期 6 例, 分泌期 9 例) を ELISA 法にて測定した。また ESC の ENA-78 産生に対する EE2, MPA の作用について検討した。【成績】内膜組織中 ENA-78 濃度は増殖期に比べ分泌期で有意に高値であった ($p<0.05$)。EE2 は ESC の ENA-78 産生に影響を与えなかったが, MPA 添加により有意に ENA-78 産生は増加した ($p<0.0001$)。【結論】Progesterone により, 子宮内膜における ENA-78 の産生が調節されていることが明らかとなった。ENA-78 は子宮内膜への炎症細胞浸潤を調節することにより, 月経周期や妊娠初期の子宮内膜の機能的変化に関与していると推察される。

関連学会のお知らせ

第1回子宮筋腫塞栓療法研究会開催と演題募集の御案内

謹啓

新緑の候、先生におかれましては、益々のご清祥のこととお慶び申し上げます。このたび子宮筋腫ならびに子宮腺筋症の治療としての選択的子宫動脈塞栓術の臨床的地位確立と情報交換を目的として子宮筋腫塞栓療法研究会を発足させました。つきましては、下記の日時に第1回の研究会を開催いたしたいと存じます。子宮動脈塞栓術に関する演題を奮ってお申し込みくださるよう御案内申し上げます。

また、この研究会にご興味のある先生をご存じでしたら、ご紹介頂くとともにご出席賜ります様かさねてお願い申し上げます。

謹白

世話人

杏林大学	産婦人科	中村幸雄
東京慈恵会医科大学	産婦人科	田中忠夫
杏林大学	放射線科	蜂屋順一

記

日時：平成13年9月29日（土）13:00より

場所：山之内製薬（株）本社2階ホール

東京都日本橋本町2-3-11

演題内容：一般講演

演題応募要項：演題名、所属、氏名（発表者に○印）、本文が400字以内の抄録を郵便、FAXまたはE-mailにてお送りください。応募演題多数の場合、一部お断りすることもあります。

演題〆切：平成13年7月31日（火）必着

演題送付先：〒181-8611 東京都三鷹市新川6-20-2

杏林大学医学部附属病院産婦人科学教室内

子宮筋腫塞栓療法研究会事務局

担当者：安藤 索

Tel：0422-47-5511（内線2608）

Fax：0422-47-3177（直通）

E-mail：obgy@kyorin-u.ac.jp

共催 子宮筋腫塞栓療法研究会
山之内製薬株式会社

TRAINING PROGRAM IN MALE INFERTILITY, FEMALE INFERTILITY, AND SEXUAL FUNCTION

UROLOGICAL INSTITUTE AND DEPARTMENT OF OBSTETRICS-GYNECOLOGY

The Cleveland Clinic Foundation (www.ccf.org) is inviting applications from persons interested in advanced training in areas of male or female infertility and sexual function. The training is designed for residents, clinicians, ART personnel and scientists with background and interest in the field of Reproductive Medicine, Andrology, and Sexual Dysfunction. Selected candidates will get an opportunity to:

- Learn treatment options in male infertility, female infertility and sexual function by informal discussions and observation of medical and surgical care of patients
- Hands-on training in various routine and advanced laboratory tests in Andrology and Sperm Banking
- Learn basic and clinical research techniques in the areas of male infertility, female infertility, and sexual function
- Participate in regular grandrounds, journal club, in-service seminars, and research meetings
- Laboratory training in microsurgery (optional) is available to trained urologists and gynecologists

Short-term (6 to 8 weeks) and long-term (3 to 6 months) training is available. Training will continue on a year-round basis and the number of available positions each quarter is limited to one. Fellowship support is available only for International Physicians. This support is limited and is provided on a competitive basis by the Cleveland Clinic International Center (www.ccf.org/ic).

The Center also offers long-term research opportunities (one to three years) to candidates registered with their parent institution or medical schools for a Master's, Ph.D., or M.D. degree. Candidates can select The Cleveland Clinic Foundation for their research studies requirement.

The training faculty includes the following staff from the Urological Institute (www.ccf.org/urology): Anthony J. Thomas, Jr., M.D. (Head, Section of Male Infertility), Drogo K. Montague, M.D. (Head, Section of Prosthetic Surgery), Kenneth Angermeier, M.D. (Section of Prosthetic Surgery), Milton M. Lakin, M.D. (Head, Section of Medical Urology), Craig D. Zippe, M.D. (Urological-Oncology Section), Ashok Agarwal, Ph.D. (Director, Center for Advanced Research in Human Reproduction, Infertility, and Sexual Function), and the following from the Department of Obstetrics-Gynecology (www.ccf.org/obgyn): Tommaso Falcone, M.D. (Department Chairman and Head, Section of Reproductive Endocrinology), Jeffrey Goldberg, M.D. (Reproductive Endocrinologist), and Marjan Attaran, M.D. (Reproductive Endocrinologist).

Interested persons should send a one-page summary of their career goals with the latest curriculum vitae and two letters of recommendation. For information on application procedures, please contact: The Cleveland Clinic Foundation, Urological Institute, 9500 Euclid Avenue, A19.1, Cleveland, Ohio 44195, USA, Attention: Mrs. Robin Verdi, Telephone (216)444-9485, Fax: (216)445-6049, e-mail: Verdir@ccf.org

日本医学会への加盟申請についての公示

平成 13 年 5 月 15 日

日本医学会

日本医学会への加盟申請については、日本医学会内規により下記のとおり公示する。

記

1. 加盟申請書受付期間

自 平成 13 年 5 月 15 日
至 平成 13 年 7 月 31 日

2. 加盟申請書には、概ね、下記の事項を記載または添付する。

- (1) 目的・沿革（学会設立年、歴史的経緯等）
- (2) 分科会としての独自性・存在の必要性
（国内の他学会との関係・関連分野の学会名）
- (3) 会員構成
 - ・会員総数
 - ・会員構成（医師、非医師の会員数、役員における医師・非医師の構成比率）
 - ・学会への会員入会資格
- (4) 学術集会（年間開催数、参加者概数）
- (5) 機関誌（英文誌・和文誌の最近 5 年間の年間発行回数、総頁数、発行部数）ならびに査読制度の有無
- (6) 国際性（国際学術集会の主催経験、国際学会との関連（支部等になっているか）、欧文機関誌の発行等）
- (7) 学会の運営状況（経理、役員構成）
- (8) 定款または会則
- (9) 役員名簿
- (10) その他参考となる事項

3. 加盟申請審査・決定時期（予定）

新規加盟審査委員会で審議の上、平成 14 年 2 月開催の日本医学会定例評議員会において審査決定する。
ちなみに平成 12 年度は 1 学会のみであった。

4. 申請書類

申請書は、下記のとおり日本医学会事務局に返信用封筒（角 2 封筒に 160 円切手貼付）を添えて請求のこと。

[日本医学会]

〒113-8621 東京都文京区本駒込 2-28-16 日本医師会館内

TEL 03-3946-2121(代) 内線 3241~2

投稿規定

(2001年4月1日改定)

1. 本誌掲載の論文は、原則として会員のものに限る。
2. 投稿論文は、本会の目的に関連のある原著、総説、論説、臨床報告、その他で、他誌に未掲載のものに限る。
3. 臨床例(臨床材料を含む)または動物を対象とした実験的研究においては倫理面を考慮すること。なお、被験者からインフォームド・コンセントを得た場合はその旨を記載する。
4. 投稿論文は、編集委員会が依頼する複数の審査委員の審査を受け、採否、掲載順、その他の編集に関する事項については、編集会議でこれを決定する。掲載は原則として受理順とする。
5. 論文は、原則として刷り上がり6ページ以内とし、超過は4ページ(計10ページ)まで認める。なお、超過ページならびに費用を要する図、表、写真、カラー印刷は実費を著者負担とする。
6. 投稿論文は、ワードプロセッサまたはコンピュータソフトを用いて作成する。原稿は、A4版用紙に和文では35字×25行の横書きとし、現代仮名づかいと常用漢字を用いる。英文論文では、12ポイントの字体でダブルスペースで印字する。1ページ当たり25行とする。なお、専門家に校閲を受けておくこと。ただし、編集委員会で校閲が必要と認めた場合にはその費用を著者負担とする。原稿は、原本1部と査読用コピー2部を添え、写真は原稿を含めて3部とする。

論文は、審査終了後に最終原稿1部と原稿を記録したフロッピディスク(FD)を送付する。FDのラベルには、機種、ソフト等を入力する。
7. 原著、総説、論説、臨床報告などには、必ず600字以内の和文ならびに、200words以内の抄録(題名、著者名、所属を含む)を添付する。各抄録の下に和文ならびに英語5語以内のKey wordsを付記する。
8. 投稿原稿は、表紙(題名、著者名、所属、住所、ランニングタイトルを和文ならびに英文で明記)、英文抄録、和文抄録、本文(緒言、対象/材料および方法、結果、考察、引用文献)の順に並べ、図表ならびに写真は稿末に一括してまとめ、符号を記入し、かつ本文中に挿入すべき位置を明示する。ランニングタイトルは和文で25字以内、英文で40letters以内とする。なお、投稿原稿、図表、写真は返却しない。
9. 海外の人名、地名などは原語、数字は算用数字とする。学術用語および諸単位は、それぞれの関連学会用語集に従い、度量衡はメートル法により、所定の記号を用いる。
10. 文献は次の形式により、引用順に末尾一括記載する。著者、編者名は3名までとし、以下は他(et al.)とする。

a) 雑誌の場合

著者名(年次)題名. 誌名 巻数:頁-頁とする。和文誌名は該当誌の規定または慣用に略名に従い、英文誌名はIndex Medicusに従って略したものを用いる。ページは通巻のページ数で最初と最終ページを記入する。

英文例) Daitoh T, Kamada M, Yamano S, et al. (1995) High implantation rate and consequently high pregnancy rate by *in vitro* fertilization-embryo transfer treatment in infertile women with anti-sperm antibody. Fertil Steril 63: 87-91
和文例) 宮崎豊彦, 久慈直昭, 末岡 浩, 他(1995) 体外受精・胚移植不成功例に対する卵巣刺激前ダナゾール投与の効果. 日不妊会誌 40: 104-109

b) 単行本の場合

著者名(年次)題名. 書名. 編者名, 発行所, 発行地, pp 頁-頁とする。(英文の場合は編者名, 書名, 順)

英文例) Collins JA (1995) Unexplained infertility. In: Keye WR Jr., Chang RJ, Rebar RW, et al. (eds.), 1st ed, infertility: Evaluation and Treatment. WB Saunders Co., Philadelphia, pp249-262
和文例) 三浦一陽(1994) 男性不妊症. アンドロロジーマニュアル. 白井將文編, 第1版, 新興医学出版, 東京, pp152-166

11. 投稿論文の著作権は、掲載が決定した時点で日本不妊学会に譲渡される。
12. 同一著者による論文の掲載は同一号に1編のみとする。
13. 著者校正は、原則として初校のみとする。なお、校正は字句の訂正にとどめる。校正の責任は全面的に著者に帰す。
14. 特別掲載を希望する論文は、受付順によらず、速やかに審査掲載される。なお、掲載に要する実費を全額著者負担とし、かつ特別掲載料を納付する。
15. 別刷は著者負担とし、50部を単位とする。原稿表紙に別刷総部数を朱記する。
16. 掲載に要した経費などは、学会から著者に直接請求書を送付する。諸費用は速やかに下記口座に送金する。

郵便振替口座: 00170-3-93207
銀行預金口座: 三和銀行麹町支店 普: 3706039
社団法人日本不妊学会宛
17. 投稿原稿には、巻末に綴じ込みの投稿申込み票を添付し、簡易書留にて下記へ送付する。

(送付先) 〒102-0083

東京都千代田区麹町5-3 K-WING 3F
(株)MAコンベンションコンサルティング内
社団法人 日本不妊学会
TEL 03-3288-7266
FAX 03-5275-1192

日本不妊学会雑誌 投稿申込票

(この用紙をコピーしてご利用ください)

タイトル：和文

英文

掲載希望：[特別掲載：普通掲載]

種別：[原著：総説：論説：症例報告：その他]

著者名：(6名以上の場合は、別紙に同様の様式でご記入下さい)

フリガナ 氏名	会員番号 [所属機関名]	フリガナ 氏名	会員番号 [所属機関名]
	No. []		No. []
1.	[]	2.	[]
	No. []		No. []
3.	[]	4.	[]
	No. []		No. []
5.	[]	6.	[]

本文ページ数：

文献件数：

和文抄録：600字以内(題名，著者名，所属を含む)

英文抄録：200words 以内(題名，著者名，所属を含む)

表： 個

図： 個

写真： 枚

[カラー印刷：白黒印刷] 希望

ランニングタイトル：

(和文 25 字以内，英文 40 letters 以内)

キーワード： 和文

(各 5 語以内) 英文

別刷希望数： 部 50 部単位とし，希望部数を記入(別刷は有料です)。

フロッピーの添付→機種名：

ソフト名：

※フロッピー(あるいは他メディア)への文書登録はできるだけ MS-DOS テキストファイル形式で行なってください。

※図・表組のデータは編集変換時にくずれますので，必ずクリアなプリントを添付してください。

投稿者の資格：本誌への投稿は，会員に限定されていますので，非会員の方は，共著者共に本会事務局宛入会手続きを取ってください。

連絡先：代表者名：

連絡先住所(郵便番号)：

TEL：

FAX：

E-mail

編集後記

スポーツ界では、米国大リーグのイチロー・新庄が活躍し、イタリアセリエ A の中田英寿がローマの優勝に貢献しました。一方、国内のプロ野球人気は低迷しています。国内では、精神障害者による大阪教育大付属池田小学校の児童・教諭殺傷事件が発生し医療関係者だけでは解決できない問題に対して社会全体で医療のあり方を検討しはじめています。不妊診療や学会活動も社会や外国へ開かれたものにならなければなりません。不妊学会雑誌も変わろうとしています。みなさまのご意見ご指導をお願い申し上げます。

(編集委員 永尾光一)

編集委員

	遠藤 克 (委員長)	
安部 裕司	安藤 索	石川 博通
石塚 文平	押尾 茂	末岡 浩
田原 隆三	中村 幸雄	永尾 光一
新村 末雄	三浦 一陽	

Editorial Board

Tuyoshi ENDO (Editor-in-Chief)

Yuji ABE	Motomu ANDO	Hiromichi ISHIKAWA
Bunpei ISHIZUKA	Shigeru OSHIO	Kou SUEOKA
Ryuzo TAHARA	Yukio NAKAMURA	Koichi NAGAO
Sueo NIIMURA	Kazukiyo MIURA	

日本不妊学会雑誌 第46巻第3号

編集発行所 社団法人 日本不妊学会
〒102-0083
東京都千代田区麹町 5-2 K-WING 3F
(株)MAコンベンションコンサルティング内
TEL: 03-3288-7266
FAX: 03-5275-1192
E-mail: funin-g@vinet.or.jp
郵便振替 00170-3-93207
印刷・製本 株式会社 杏林舎
〒114-0024
東京都北区西ヶ原 3-46-10
TEL: 03-3910-4311
FAX: 03-3949-0230
E-mail: info@kyorin.co.jp

2001年6月25日印刷
2001年7月1日発行

第46回 日本不妊学会総会および学術講演会

< 2001年11月8日(木)~9日(金) / 東京都・京王プラザホテル >

ご宿泊の案内

宿泊利用のご案内

※ 1泊朝食付・サービス込、税金別のお一人様の宿泊代金です。

略号	ホテル名	料金	詳細
A	京王プラザホテル (シングルルーム)	¥ 21,000	会場。JR新宿駅西口より徒歩5分。地上47階(南館34階)、地下3階。レストラン(世界各国料理)、喫茶、バー、ラウンジ、プール、サウナ、エグゼクティブサービスセンター等有。デラックスな超高層ホテル。
B	京王プラザホテル (ツインルーム)	¥ 13,000	
C	新宿ワシントンホテル (シングルルーム)	¥ 13,500	会場まで徒歩3分。JR新宿駅南口より徒歩8分。地上25階、地下4階。レストラン(和・洋)、喫茶、バー有。約1300室の大型ホテル。
D	サンルートホテル東京 (シングルルーム)	¥ 12,500	会場まで徒歩10分。JR新宿駅南口より徒歩3分。レストラン(和・洋・中)、喫茶、スナック・パブ有。交通至便でビジネスに好適。

お申し込み方法

① 宿泊申込書に必要事項をご記入の上、下記宛にファックスにてお送り下さい。

申込締切日 2001年9月21日

② 10月10日までに宿泊券類、請求書をご送付致します。

※ 手配手数料としてお一人様800円申し受けます。

③ ご請求書着後、1週間以内に必ずお振込み下さい。

※ ご入金を確認できない場合、予約取消しとなることもございます。

※ E-mailでのお申し込みも受け付けます。申込書の記載事項に基づき送信して下さい。E-mailにてご回答申し上げます。E-mail: tyoicic@blue.ocn.ne.jp

※ 満室になり次第、締め切りとなりますので、お早めにお申し込み下さい。

※ ワシントンホテル、サンルートホテル東京のツインルームをご希望の方は、申込書の通信欄にその旨ご記入下さい。

取り消し料

お取り消しの際は、手配手数料の他に下記手数料がかかります。ご返金は、会議終了後となります。尚、お取り消しは、当社の営業時間(平日09:00~17:45)のみ受け付けます。

14日前以降: ¥ 1,000	3日前以降: 宿泊代の50%	当日: 宿泊代の80%	無連絡: 宿泊代の100%
-----------------	----------------	-------------	---------------

三喜 I C I C ・三喜トラベルサービス(株) 国土交通大臣登録旅行業第321号

〒170-0002 東京都豊島区巣鴨1-20-9 巣鴨ファーストビル7階

電話: 03-3947-1511 / FAX: 03-3947-1529 / E-mail: tyoicic@blue.ocn.ne.jp

担当: 藤沢、富川

第 46 回 日本不妊学会総会および学術講演会

宿泊申込書

お申し込み代表者氏名		お申し込み日： 月 日 ※お申込締切日：2001年9月21日					
ご連絡先住所： 自宅 / 勤務先 [名称：] ※送信先が勤務先の場合は、名称を必ずご記入下さい。 [〒 -]							
電話：		/FAX：	/E-mail：				
	フリガナ	年 齢	宿 泊			回 答 欄	
	氏名	性 別	略号	利 用 日			
例	サンキ イテロウ 三喜 一郎	35 歳 男 女	A	(11/7)	(11/8)	11/9	<input type="checkbox"/> ご希望通り手配 できました。 <input type="checkbox"/> ご連絡欄をご覧 下さい。
1		歳 男 女		11/7	11/8	11/9	<input type="checkbox"/> ご希望通り手配 できました。 <input type="checkbox"/> ご連絡欄をご覧 下さい。
2		歳 男 女		11/7	11/8	11/9	<input type="checkbox"/> ご希望通り手配 できました。 <input type="checkbox"/> ご連絡欄をご覧 下さい。
3		歳 男 女		11/7	11/8	11/9	<input type="checkbox"/> ご希望通り手配 できました。 <input type="checkbox"/> ご連絡欄をご覧 下さい。
4		歳 男 女		11/7	11/8	11/9	<input type="checkbox"/> ご希望通り手配 できました。 <input type="checkbox"/> ご連絡欄をご覧 下さい。
5		歳 男 女		11/7	11/8	11/9	<input type="checkbox"/> ご希望通り手配 できました。 <input type="checkbox"/> ご連絡欄をご覧 下さい。
通信欄 (何かありましたらご記入下さい。)			ご連絡欄				

三喜 I C I C ・三喜トラベルサービス (株) 担当：藤沢、富川

FAX : 03-3947-1529 / E-mail : tyoicic@blue.ocn.ne.jp